

酢酸でん粉の分析

関 川 義 明^{*}, 嶋 田 勝^{**}

Analysis of Starch Acetates

Yoshiaki SEKIKAWA^{*} and Masaru SHIMADA^{**}

^{*}Import Division, Tokyo Customs

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

^{**}Central Customs Laboratory, Ministry of Finance

531, Iwase, Matsudo-shi, Chiba-ken, 271 Japan

For analytical identification of starch of low degree of substitution, degradation by glucoamylase, colorimetric absorption spectra, infrared spectra and Brabender viscograph were applied.

Degradation behavior by glucoamylase and density of iodine coloration for starch acetate depend on the degree of substitution. Relationship between degree of substitution and absorbance ratio ($1,740\text{cm}^{-1}/860\text{cm}^{-1}$) in infrared spectra showed very good correlation. Degree of substitution of starch acetate was determined rapidly and accurately by infrared spectra method.

It was found that degradation behavior by glucoamylase and colorimetric absorption spectra were useful for the estimation of modification of raw starch.

- Received August 11, 1986 -

1 緒 言

でん粉誘導体の一種である酢酸（アセチル化）でん粉は、接着剤さらに繊維工業などに広く使用されており、多量に我が国に輸入されている。

現行の関税制度においては、でん粉誘導体と未処理でん粉（生でん粉）は取扱いが異なっており、また我が国の輸入制度などの関係からも両者の鑑別は重要な

問題となっている。

酢酸でん粉は、一般的に、でん粉にアセチル化剤として無水酢酸を用いて、常温でアセチル化して製造される。このように合成された酢酸でん粉のアセチル基の置換度は、非常に低いものから比較的高いものまであり、置換度は広い範囲にわたっている。置換度の非常に低い酢酸でん粉は、外観、検鏡、赤外吸収スペクトル、ブラベンダー粘度などから、未処理でん粉と区

^{*}東京税関輸入部 〒108 東京都港区港南 5 - 5 - 30

^{**}大蔵省関税中央分析所 〒271 千葉県松戸市岩瀬 531

区別するのに非常に困難な場合も多く、加工処理の程度、すなわち置換度を求めるのはむずかしい。

ここでは、酢酸でん粉の化学的性質さらに物理的性質を明らかにすることを目的として、置換度の異なる種々の酢酸でん粉を合成し、置換度の測定、ブラベンダー粘度、赤外吸収スペクトル、加水分解（グルコアミラーゼ）による分解挙動、よう素呈色の吸収スペクトルなど、基礎的な検討を行い、二、三の知見が得られたので報告する。

2 実 験

2.1 試 薬

アセチル化剤：無水酢酸（和光純薬社製）

酵素：グルコアミラーゼ（活性度：36.7 U/mg, 生化学工業製）

でん粉：タピオカでん粉（タイ国産）

よう素溶液：よう化カリウム 20g 及びよう素 2g を水に溶かして 1l としたもの

ハーネス試薬：常法により調製したもの

その他：0.1N 水酸化ナトリウム, 0.45N 水酸化ナトリウム, 2N 水酸化ナトリウム, 0.2N 塩酸, 0.5N 硫酸, 5N 硫酸, フェノールフタレン（1%アルコール溶液）以上和光純薬社製の試薬を用いて調製した。

2.2 酢酸でん粉の合成

500ml のビーカーにでん粉 70g を採取し、脱イオン交換水 200ml を加えてスラリーを調製した後、攪拌器で攪拌しながら 30 の恒温槽に 1 時間放置した。1 時間後ビーカーを取り出し、スラリーに pH 電極を入れ、スターラーで攪拌しながら 0.1N 水酸化ナトリウム溶液で pH8.3 に保持して、アセチル化剤として無水酢酸を除々に添加して 30 分間反応を行った。反応中はスラリーの pH が低下していくので、pH8.3 に保持し、反応を進行させた。反応中のスラリーの温度は 26 ~ 28 であった。反応終了後、スラリーを希硫酸で pH5.8 に調製し、多量の脱イオン交換水で数回洗浄した後風乾し、試料とした。

なお、アセチル基の置換度の調製は無水酢酸の仕込量を変えることにより行い、置換度の異なる 7 種類の酢酸でん粉の合成を行った。

2.3 試料の精製

試料の精製は、2.2 で得られた合成品をセルローズチューブ透析膜（ピスキング社製、公称孔径サイズ：24 ）に入れ、脱イオン交換水で 3 日間透析を行い、遊離の無機塩を除去した。風乾後さらに 105 で乾燥したものを実験に使用した。

2.4 アセチル基の置換度の測定

合成した酢酸でん粉のアセチル基の置換度は、けん化法¹⁾により求めた。すなわち、精製試料 5g を 50ml の脱イオン交換水に分散し、フェノールフタレン指示薬を数滴加え、0.1N 水酸化ナトリウムを分散液が微紅色を呈するまで加え、さらに 0.45N 水酸化ナトリウムをホールピペットを用いて 25ml 添加し、30 分間室温で振とうを行った。振とう後、0.2N 塩酸で無色になるまで滴定を行った。なお、未処理でん粉を同様の操作を行い空試験値を求めた。

2.5 赤外吸収スペクトルの測定

合成品の赤外吸収スペクトルは、臭化カリウム錠剤法により日立 IR - 295 型の赤外分光光度計により測定を行った。

2.6 粘度の測定

合成品の粘度は、30g を用いてブラベンダー社製のビスコメーターにより測定を行った。

2.7 加水分解酵素による酢酸でん粉の分解

精製試料 0.3g を三角フラスコに採取し、脱イオン交換水約 50ml を加えて沸とう水中で 30 分間加熱してアルファー化した後、100ml に定容した。20ml 分取して、0.2M 酢酸緩衝液（pH4.8）に溶解したグルコアミラーゼ（10mg/50ml）を 2.5ml 加えて 37 の恒温槽で 2.5 時間反応を行った後、1ml 分取してグルコアミラーゼの作用により生成した還元糖量をハーネス法により測定し、消費した N/100 チオ硫酸ナトリウムの滴定量から分解率の検討を行った。

2.8 よう素呈色による吸収スペクトル

精製試料 0.3g を三角フラスコに採取し、脱イオン交換水約 50ml を加えて沸とう水中で 30 分間加熱してアルファー化した後、100ml に定容した。4ml を 100ml のメスフラスコに分取し、脱イオン交換水

約 50ml を加えた後, よう素溶液 1ml を加えて 100ml に定容し, ろ過を行った。ろ液を島津ダブルビー

ム分光光度計 UV - 190 型を用いて, 可視部の吸収スペクトルを測定した。

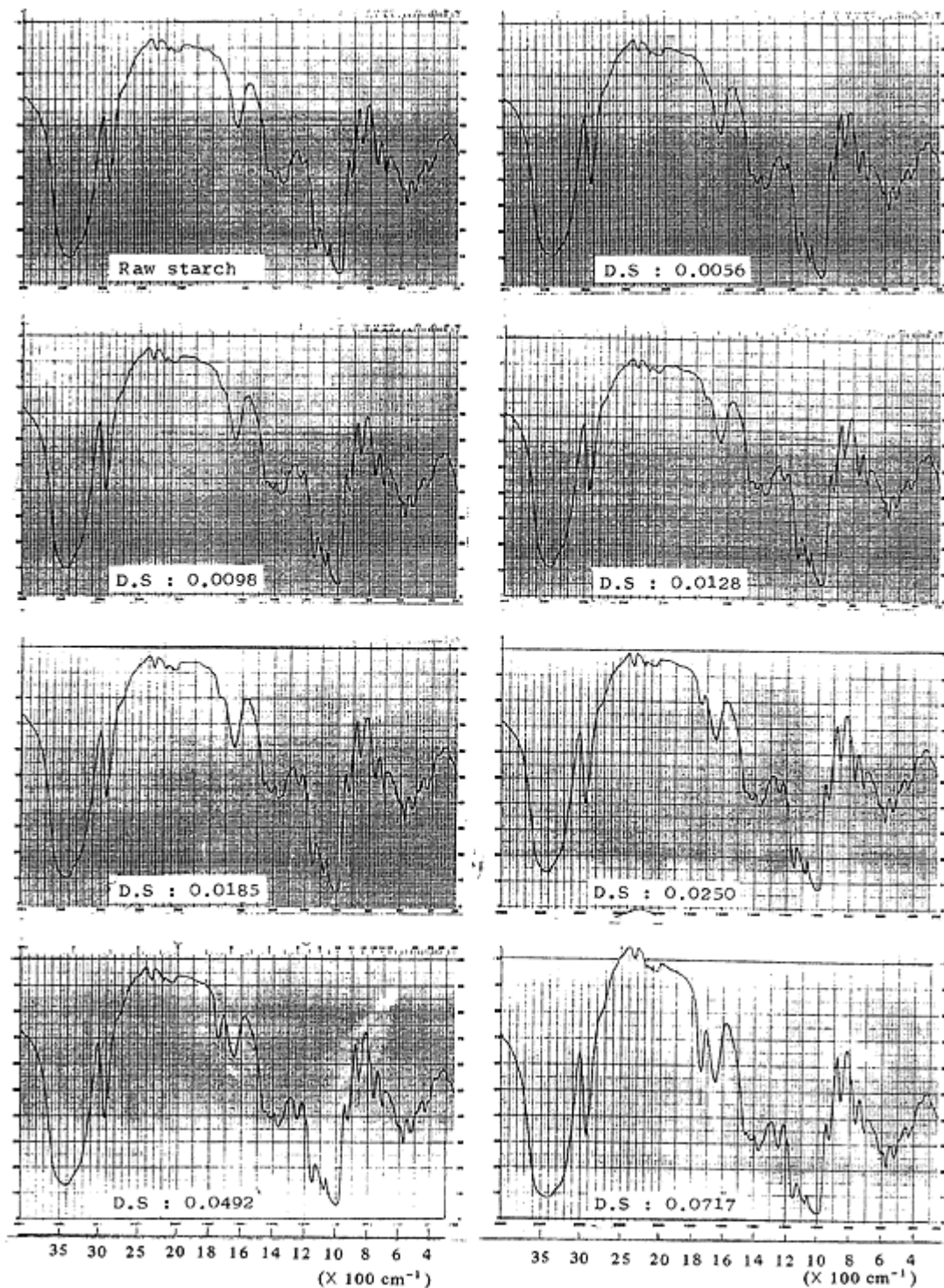


Fig. 1 Infrared spectra of synthesized starch acetates D. S : Degree of substitution value of starch acetates

3 結果及び考察

3.1 アセチル基の置換度

合成品の酢酸でん粉のアセチル基の置換度を Table

Table 1 Degree of substitution of synthesized starch acetates

| | A | B | C | D | E | F | G |
|------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Titrant (ml) | 0.80 | 1.35 | 1.80 | 2.61 | 3.15 | 6.15 | 8.95 |
| CH ₃ CO (%) | 0.152 | 0.260 | 0.336 | 0.489 | 0.663 | 1.293 | 1.869 |
| D. S. | 0.0056 | 0.0098 | 0.0128 | 0.0185 | 0.0250 | 0.0492 | 0.0717 |

D. S. (Degree of substitution) was determined by saponification method.

3.2 赤外吸収スペクトルと置換度の関係

合成品の赤外吸収スペクトルは Fig.1 に示した。置換度が大きくなるにしたがい、 $1,740\text{cm}^{-1}$ 付近のアセチル基の $\epsilon_{=0}$ による吸収強度が大きくなっていく。なお、未処理でん粉では、 $1,740\text{cm}^{-1}$ 付近には吸収は認められない。置換度が 0.0056 でも、 $1,740\text{cm}^{-1}$ 付近に弱いショルダーが認められる。対象側に未処理でん粉を使用した差スペクトルでは、 $\epsilon_{=0}$ の吸収強度が強くなり、アセチル化の有無の判定が容易に行えるものと考えられる。

3.3 加水分解酵素による分解率

未処理でん粉をグルコアミラーゼで分解した時の分解挙動は Fig. 2 に示した。反応時間 90 分間でほぼ定常値になり、120 分間で加水分解が一定になったこと

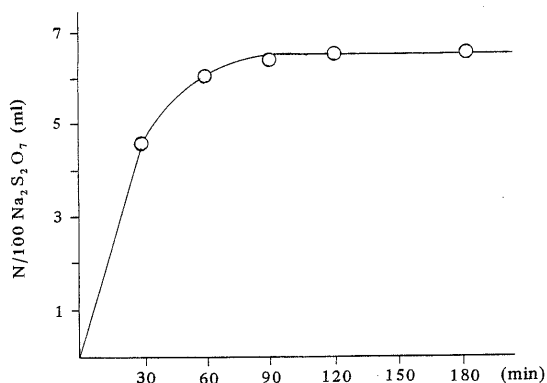


Fig. 2 Rate of hydrolysis of raw starch by gluco amylase.

Reducing sugar by glucoamylase was determined by Hanes method.

1 に示した。置換度 0.0056 と低いものでも、空試験との滴定量の差が 0.8ml であり、測定に支障はなかった。

から酢酸でん粉については、分解時間を 2.5 時間とした。還元力は、グルコアミラーゼで 2.5 時間加水分解後、生成した還元糖量をハーネス法で定量し、N/100 チオ硫酸ナトリウム溶液の消費量で表した。

Fig. 3 に置換度と還元力の関係を示した。置換度の増加にしたがい、グルコアミラーゼによる分解率が低下していることを示している。

グルコアミラーゼはでん粉の 1,4 - 結合と 1,6 - 結合をランダムに分解するが、アセチル基で置換されたグルコースを含む 1,4 - グルコシド結合は加水分解されないで、置換度が増加すると、糖エステルを含む未分解の糖鎖が多くなることによるものと考えられる。したがって、酢酸でん粉の置換の程度はグルコアミラーゼによる分解挙動からも推定することができる。

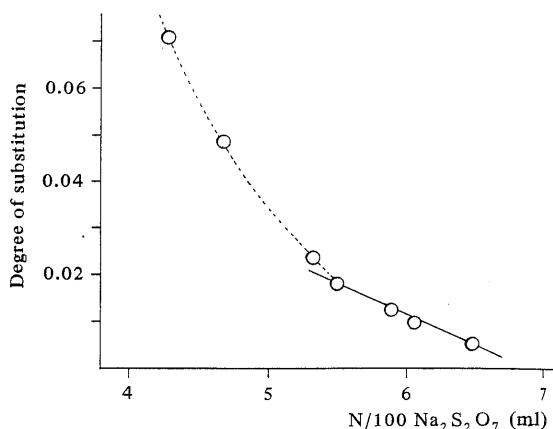


Fig. 3 Relationship between degree of substitution and volume of N/100 Na₂S₂O₇ consumed

3.4 よう素呈色による吸収スペクトル

各種置換度の酢酸でん粉の可視部の吸収スペクトルを Fig. 4 に示した。また、660nm における未処理でん粉との吸光度の差を Fig. 5 に示した。

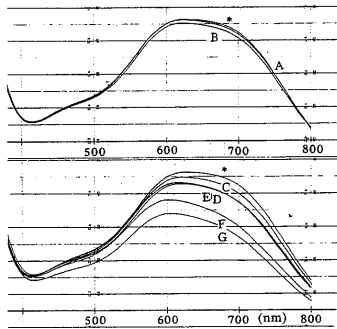


Fig. 4 Visible spectra synthesized starch acetates colored by iodine solution

* : Raw starch(0.927), A : D.S. 0.0056(0.920)
 B : D.S. 0.0098(0.901), C : D.S. 0.0128(0.877)
 D : D.S. 0.0185(0.837), E : D.S. 0.0250(0.833)
 F : D.S. 0.0492(0.713), G : D.S. 0.0717(0.632)
 () : Absorbance at 660 nm
 D. S : Degree of substitution

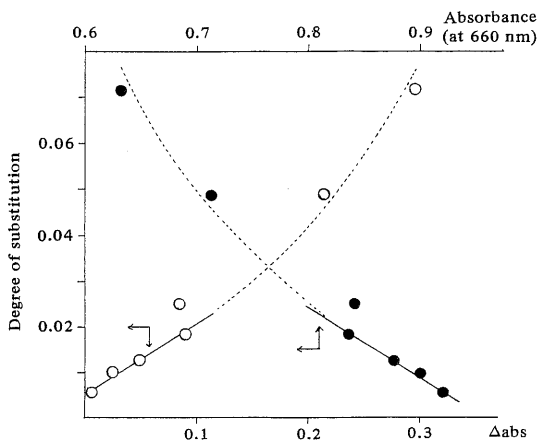


Fig. 5 Relationship between degree of substitution and absorbance at 660 nm

: Absorbance at 660 nm
 : Differences in absorbance at 660 nm
 (Raw starch-Synthesized starch acetates)

Fig.5 に示したように、酢酸でん粉の置換度の増加に
 したがって、よう素による発色の度合が低下している。
 これは、一度アルファ化したでん粉誘導体はベーター

化への移動が容易ではないことによるものと考えられる。

3.5 赤外吸収スペクトル法による置換度の測定

Fig. 6 に置換度による $1,740\text{cm}^{-1}$ の $\text{C}=\text{O}$ の吸収とグルコピラノース環の CH 変角振動に基づく 860cm^{-1} の吸収の吸光度比との関係を示した。

置換度と吸光度比は良い直線関係を示し、相関係数を求めた結果 $r = 0.999$ で、両者の間には強い相関関係がある。このことは、赤外吸収スペクトル法により、酢酸でん粉のアセチル基の置換度が求められることを示唆している。

3.6 輸入品への応用

酢酸でん粉として輸入されたでん粉誘導体に応用した。すなわち、輸入品をセルロース透析膜で精製を行った後、グルコアミラーゼの作用により生成した還元糖の還元力及びよう素溶液による発色度合は、未処理でん粉とは異なっており、でん粉誘導体の有無を判別することができた。また、けん化法により求めた置換度と赤外吸収スペクトル法により求めた置換度はほぼ類似した値を示した。

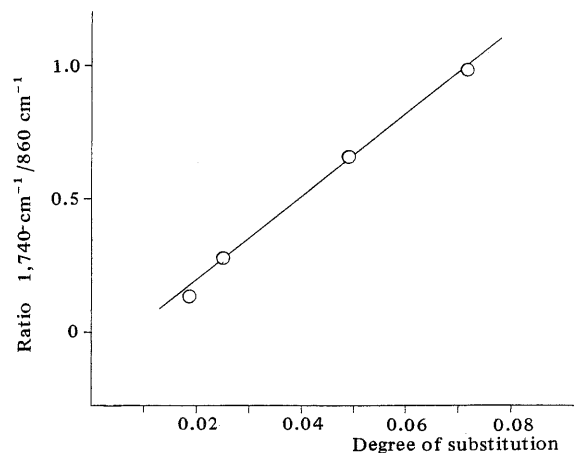


Fig. 6 Relationship between degree of substitution and ratio of intensity at $1,740\text{cm}^{-1}$ to 860cm^{-1} in infrared spectra

Coefficient of correlation : $r = 0.999$

4 要 約

酢酸でん粉の合成を行い、アセチル基の置換度と加水分解酵素による分解挙動及びよう素呈色の吸収スペクトルの関係、さらに赤外吸収スペクトル法による置換度の測定についても検討を行った。

酢酸でん粉の加水分解酵素による分解挙動及びよう素による発色度合は、未処理でん粉とは異なっていた。置換度の増加にしたがい、分解率及び発色度合は低下していき、両者の挙動はほぼ類似した結果を示した。さらに、赤外吸収スペクトル法により、アセチル基の置換度を迅速・正確に求めることができた。

文 献

- 1) 鈴木繁男, 中村道徳編: 澱粉化学実験法, 朝倉書店 (1979) .