

ノート

でん粉誘導体の分析

関 川 義 明^{*}, 出 来 三 男^{**}

Analysis of Several Starch Derivatives

Yoshiaki, SEKIKAWA^{*} and Mitsuo DEKI^{**}^{*} Central Customs Laboratory, Ministry of Finance,
531, Iwase, Matsudo-shi, Chiba-ken 271, Japan^{**} Export Division, Nagasaki Customs
1-36, Dezima-cho, Nagasaki-shi, Nagasaki-ken 850, Japan

Identification of starch derivatives such as etherified starch, crosslinked starch, esterified starch, and oxidized starch, were investigated. Thin-layer chromatography of hydrolysis products by 2.5% hydrochloric acid, behaviour of starch derivatives on hydrolase (α -amylase and/or glucoamylase), and gaschromatography of pyrolysate were performed for identifying and detecting modification of several starch derivatives from the non-treated starch.

There were remarkably difference in glucose derivatives from hydrolysate of starch derivatives. Rate of hydrolysis of starch derivatives by hydrolase was lower than that of non-treated starch. Gaschromatograms of pyrolysate of starch derivatives were more complicated than that of starch's. In this investigation, starch derivatives which has low degree of substitution, showed similar behaviour of non-treated starch.

It was found that these methods was useful for the estimation of modification on starch.

- Received Sep. 8, 1982 -

1 緒 言

各種でん粉誘導体は、繊維工業、製紙工業、食品工業などに広く用いられており、その輸入量も非常に多い。関税率表では、でん粉誘導体は税番第 39・06 号、他の加工処理を行ったでん粉は税番第 35・05 号に分類され、一方未処理でん粉（生でん粉）は税番第 11・08 号に分類されており、関税率表上の取扱い及び輸入制度上の取扱いが異なっている。したがって、これら相互の鑑別が必要とされている。

でん粉誘導体は、エステル化でん粉、エーテル化でん粉及び架橋でん粉の 3 種類に大別することができ、それらの中には酸化でん粉は別として、各種の薬品で処理されたでん粉誘導体が含まれている。Fig. 1 に、各種処理でん粉のタイプ別分類¹⁾を示した。

輸入されるでん粉誘導体の置換度（でん粉誘導体のエステル化、エーテル化度を表わす。すべて入れば $DS=3$ 、グルコース 100 個に 1 個の置換であれば $DS=0.01$ ）は一般に低く、外観、性状、化学的組成あるいは物性面において、未処理でん粉と大きな差はなく、両者を区別するのに困難な場合が非常

* 大蔵省関税中央分析所 271 千葉県松戸市岩瀬 531

** 長崎税関輸出部 850 長崎県長崎市出島町 1-36

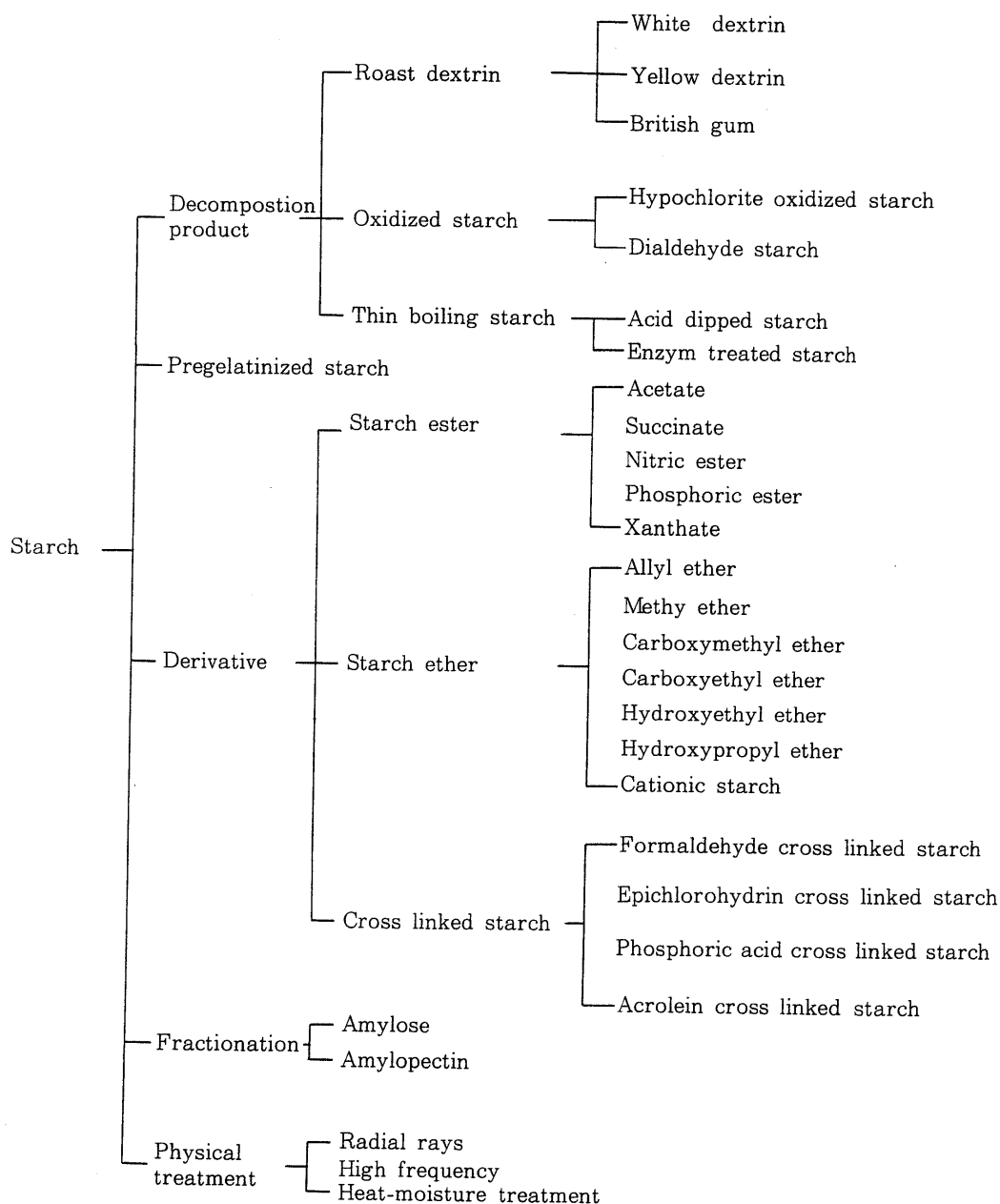


Fig.1 Classification of modified starch

に多くなっている。

これまで、でん粉誘導体の分析方法は、顕微鏡による外観及び偏光性の観察、赤外吸収スペクトル法、

ガスクロマトグラフィー²⁾、ブラベンダー粘度計によるビスコグラム³⁾及び置換基の定性定量などにより検討されてきたが、低置換度のでん粉誘導体について

てはさらに検討する必要がある。

ここでは、数種の低置換度でん粉誘導体の酸加水分解物の薄層クロマトグラフィー、加水分解酵素による分解挙動、熱分解挙動などについて検討した結果を報告する。

2 実 験

2・1 酸加水分解物の薄層クロマトグラフィー

でん粉誘導体を 2.5% 塩酸で 2.5 時間加水分解後、水酸化ナトリウム溶液で中和した後、蒸発乾固し、80% メチルアルコール溶液で抽出を行い、抽出物について薄層クロマトグラフィーを行った。薄層板；メルク社製シリカゲル 60，展開溶媒；アセトニトリル：水（85：15）3 回展開 n - プロパノール：水：アンモニア（70：30：1）2 回展開 検出；ジフェニルアミン（1.2g）- アニリン（1.2g）- リン酸（10ml）- メチルアルコール（100ml）溶液 105 乾燥。

2・2 加水分解酵素による分解挙動

2・2・1 - アミラーゼによる分解挙動

でん粉誘導体を水に分散し、沸とう水中で加熱してアルファー化した後、一定量の - アミラーゼを加えて、37 の恒温槽に放置し、一定時間毎に分取し、1N 塩酸で反応を停止させたのち、一定量のよう素溶液（よう化カリウム 20g 及びよう素 2g を水に溶解して 1l としたもの）を加えて、660nm における吸光度を島津ダブルビーム分光光度計 UV - 190 型で測定した。

2・2・2 グルコアミラーゼによる分解挙動

でん粉誘導体を水に分取し、沸とう水中で加熱してアルファー化した後、0.2M 酢酸緩衝液（PH4.8）に溶解したグリコアミラーゼを一定量加えて 37 の恒温槽に放置し、一定時間毎に分取し、グルコアミラーゼにより分解し、生成した還元糖量をハーネス法により測定した。

2・3 熱分解挙動

でん粉誘導体約 1.5mg をキュリーポイント 358 の金属ホイルに包み、日本分析工業社製高周波加熱分解装置 JHP - 2 型で 10 秒間分解を行い、分解生

成物をガスクロマトグラフ（島津 GC - 7AG）により分離した。検知器 F1D，カラムは PEG - 20M をクロモソルブ GAW，DMCS（80~100 メッシュ）に 5% コーティングしたものを、3mm × 2m のガラスカラムに充てんしたもので、80~250 まで 6 /min で昇温を行った。キャリアガスはヘリウムで、流速は 50ml/min である。

3 結 果 及 び 考 察

3・1 酸加水分解物の薄層クロマトグラフィー

各種でん粉誘導体の 2.5% 塩酸加水分解生成物の薄層クロマトグラムの一例を Fig.2 に示した。Rf 値の等しい大きなスポットは、いずれもでん粉の構成単位であるグルコースのスポットに相当する。Rf 値の高い、小さなスポットはトリオース、テトラオースなどのオリゴ糖によるものと推定される。アセトニトリル - 水系展開溶媒で分離した場合、ヒドロキシエチル化でん粉（エーテル化でん粉）では、グルコースのスポットの上に比較的大きなスポットが 3 個あらわれており、これらのスポットは 2，3 あるいは 6 位の炭素の水酸基がヒドロキシエーテル化されたグルコース誘導体のスポットに相当するものと考えられる。ヒドロキシプロピル化でん粉，りん酸エステル化でん粉及びカルボキシメチル化でん粉では、未処理でん粉と異なったクロマトグラムを示すが、酸化でん粉，りん酸架橋でん粉では、未処理でん粉と類似したクロマトグラムを示し、これら相互間の区別は薄層クロマトグラフィーのクロマトグラムからはできなかった。この傾向は、2.5% 塩酸加水分解及び加水分解酵素による分解生成物を、高速液体クロマトグラフィーにより分離したクロマトグラムでも認められた。

酸化でん粉及びりん酸架橋でん粉の加水分解生成物が未処理でん粉のそれと類似したクロマトグラムを示すことは、これらのでん粉誘導体の置換度が極めて低いため、分解生成物である糖誘導体が検知限界以下であったことによるものと考えられる。

3・2 加水分解酵素による分解挙動

3・2・1 アミラーゼによる分解挙動

未処理でん粉及びでん粉誘導体の アミラーゼ

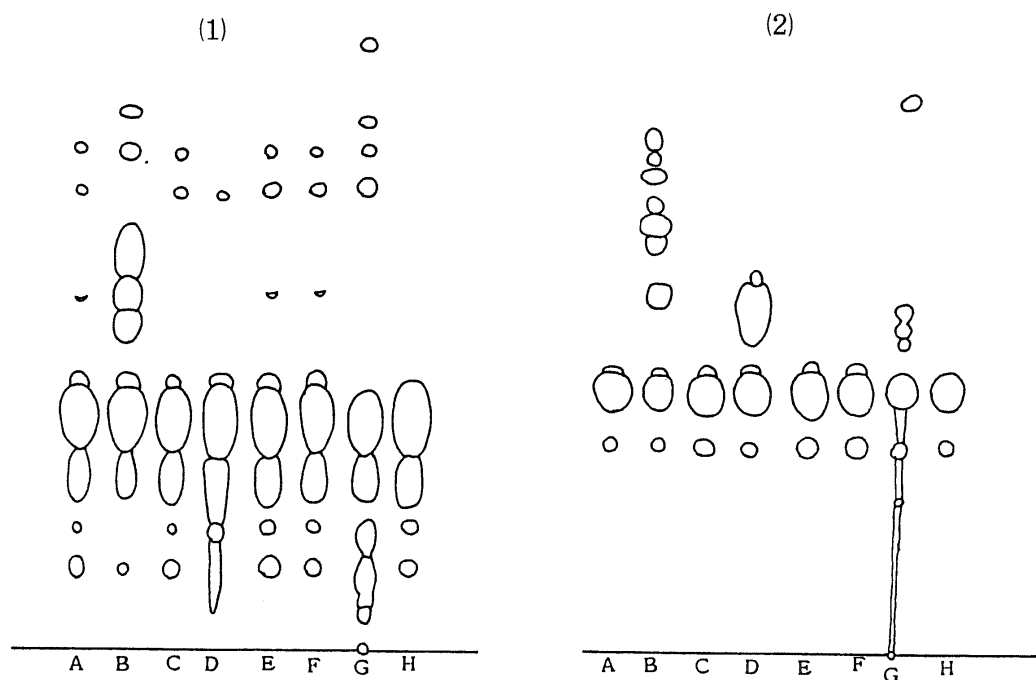


Fig.2 Thin layer chromatograms of hydrolysate of starch derivatives and natural starches

Solvent system : (1) Acetonitril : water = 85 : 15 (v/v)

(2) n propanol : water : ammonia = 70 : 30 : 1 (v/v)

A : Wheat starch

B : Hydroxypropylstarch (corn, ether)

C : Oxidized starch (wheat)

D : Carboxymethylstarch (potato, ether)

E : Waxy corn starch

F : Starch phosphate (waxy, cross linked)

G : Starch mono phosphate (potato, ester)

H : Starch phosphate (wheat, crosslinked)

による加水分解挙動を、よう素呈色法により測定した結果 Fig. 3 及び Fig. 4 に示した。未処理でん粉では、よう素呈色は 60 分間の加水分解で約 80% まで減少するが、酸化でん粉では約 40% しか減少しない。小麦でん粉をりん酸架橋したでん粉誘導体では、未処理小麦でん粉と同様の加水分解挙動を示した。ヒドロキエーテル化でん粉及びりん酸エステル化でん粉は アミラーゼによりほとんど加水分解されないことから、未処理でん粉とでん粉誘導体では アミラーゼの加水分解挙動に相違が認められた。

3・2・2 グルコアミラーゼによる分解挙動

未処理でん粉及びでん粉誘導体に対するグルコアミラーゼによる分解挙動を、Fig. 5 及び Fig. 6 に示した。りん酸架橋でん粉では、約 90 分間で

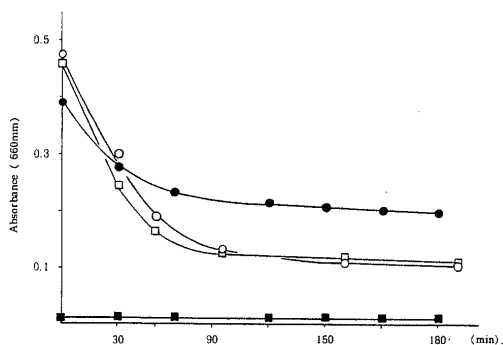


Fig.3 Rate of hydrolysis by amylase

●—● : Oxidized starch (Wheat)

□—□ : Corn Starch

○—○ : Wheat Starch

■—■ : Hydroxypropylstarch (corn, ether)

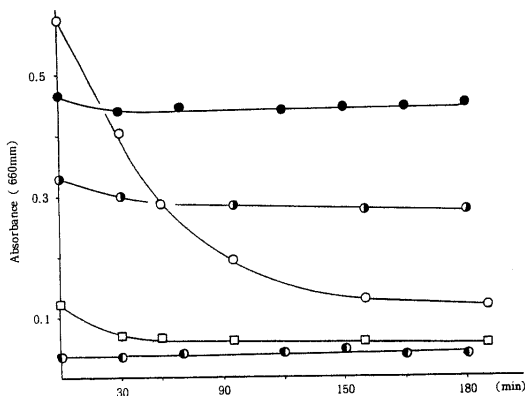


Fig.4 Rate of hydrolysis by amylase
 ●—● : Hydroxyethylstarch (potato, ether)
 ○—○ : Starch mono-phosphate (potato, ester)
 ○—○ : potato starch
 □—□ : Waxy corn starch
 ■—■ : Carboxymethylstarch (potato, ether)

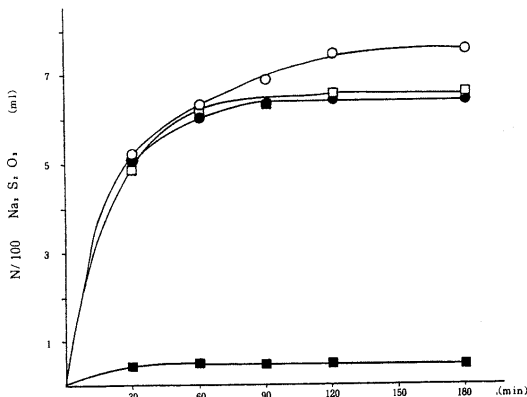


Fig.6 Rate of hydrolysis by glucoamylase
 ○—○ : Wheat starch
 □—□ : Corn starch
 ●—● : Oxidized starch (wheat)
 ■—■ : Hydroxypropylstarch (corn, ether)

加水分解率は一定になるが、この加水分解率は未処理でん粉よりも高くなっている。これに対して、カルボキシメチル化でん粉、りん酸エステル化でん粉及

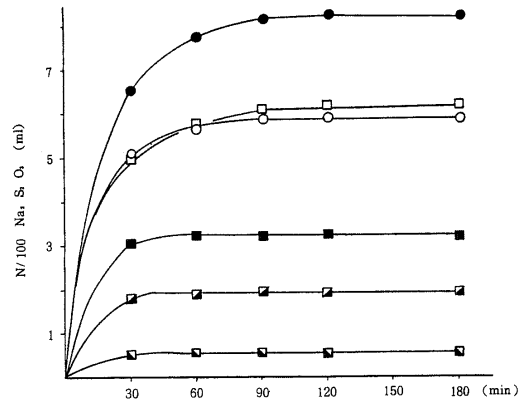


Fig.5 Rate of hydrolysis by glucoamylase
 Reducing Sugar : Determined by Hanes method
 ●—● : Starch phosphate (waxy, cross linked)
 □—□ : potato starch
 ○—○ : Waxy corn starch,
 ■—■ : Carboxymethylstarch (potato, ether)
 ■—■ : Starch mono-phosphate (potato, ester)
 ■—■ : Hydroxyethylstarch (potato, ether)

びヒドロキシエチルでん粉では加水分解率は著しく低下し、未処理でん粉の加水分解率の50%程度である。これらの分解挙動は アミラーゼによる加水分解の性状とほぼ類似している。

りん酸架橋でん粉は別として、一般にでん粉の化学的誘導体では加水分解酵素に対するアフィニティーが低下するので、グルコアミラーゼによる分解率を測定することにより改質処理の有無を推定することができる。

3・3 熱分解挙動

未処理でん粉及びでん粉誘導体の熱分解ガスクロマトグラムの一例を Fig. 7 に示した。未処理でん粉とでん粉誘導体では、異なったクロマトグラムを示す。この熱分解生成物の再現性は良く、繰り返し測定により同一のクロマトグラムが得られた。すなわち、未処理でん粉では、でん粉の種類にかかわらず、Fig. 7 に示したとうもろこしでん粉のクロマトグラ

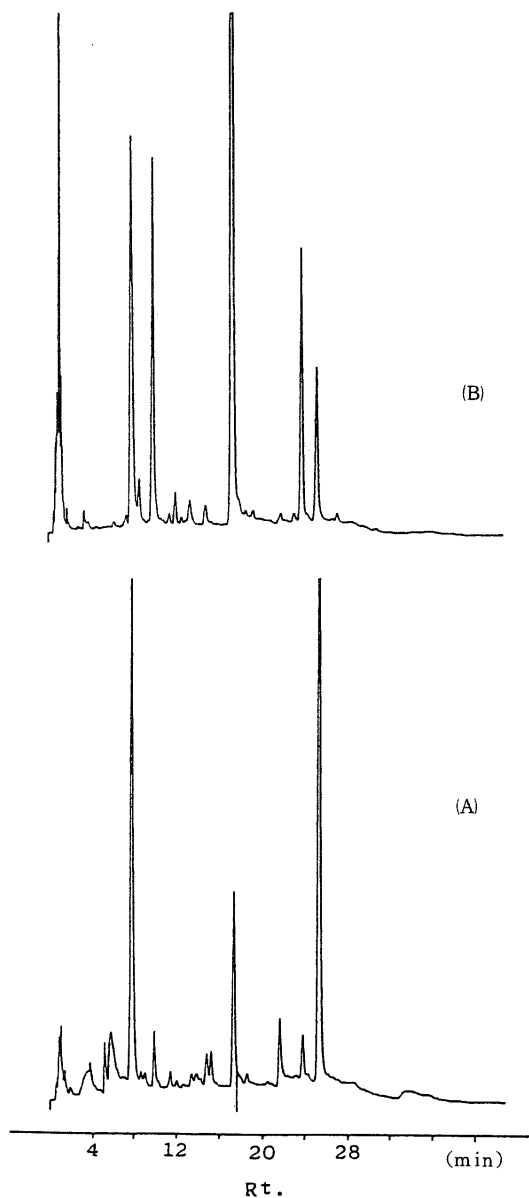


Fig.7 Gaschromatograms of pyrolysate of modified starch and starch
(A) : Corn starch
(B) : Starch phosphate & carbamate (corn, ester)

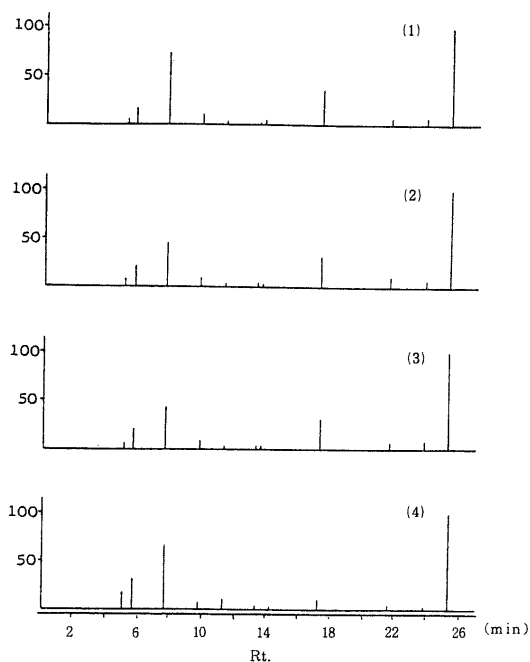


Fig.8 Gaschromatgrams of pyrolysate of starches
(1) : Wheat starch (2) : Corn starch
(3) : Potato starch (4) : Waxy corn

ムと同様のクロマトグラムを示し、各ピークのインテグレーターによる面積強度比もほぼ一定した値を示した。保持時間約 25 分のピークの相対面積強度は 33% であり、いずれの未処理でん粉でも最大値を占めている。このピーク的面積強度値を 100 とし、それぞれのピークについて相対強度比を求めて、図式化した結果を Fig. 8 Fig. 9 及び Fig.10 に示した。

でん粉誘導体と未処理でん粉では、異なった熱分解がスクロマトグラムを示すが、りん酸架橋でん粉；酸化でん粉及びエピクロロヒドリン架橋でん粉は、未処理でん粉と類似した熱分解クロマトグラムのパターンを示す。

熱分解クロマトグラムの各ピークについては確認していないが、今後 GC MS により検討することとしている。

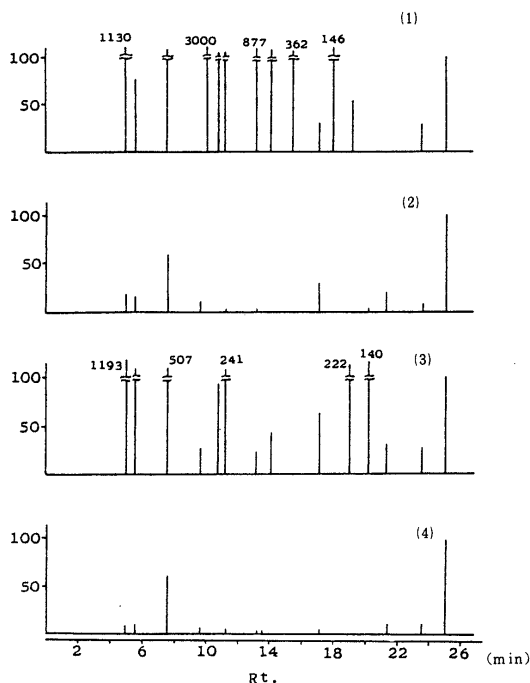


Fig.9 Gaschromatograms of pyrolysate of modified starches

- (1) : Hydroxypropylstarch (potato, ether)
- (2) : Starch phosphate (waxy, cross linked)
- (3) : Carboxymethylstarch (potato, ether)
- (4) : Oxidized starch (wheat)

4 要 約

低置換度の各種でん粉誘導体を鑑別するため、2.5%塩酸加水分解物の薄層クロマトグラフィー、加水分解酵素による分解挙動及び熱分解ガスクロマトグラフィーについて検討した。

2.5%塩酸加水分解物の薄層クロマトグラムは未処理でん粉とでん粉誘導体のもので異なっており、でん粉誘導体ではグルコース誘導体と考えられるスポットが検出される。加水分解酵素に対する分解挙動は、でん粉誘導体と未処理でん粉では著しい差が認められる。熱分解ガスクロマトグラムは、未処理

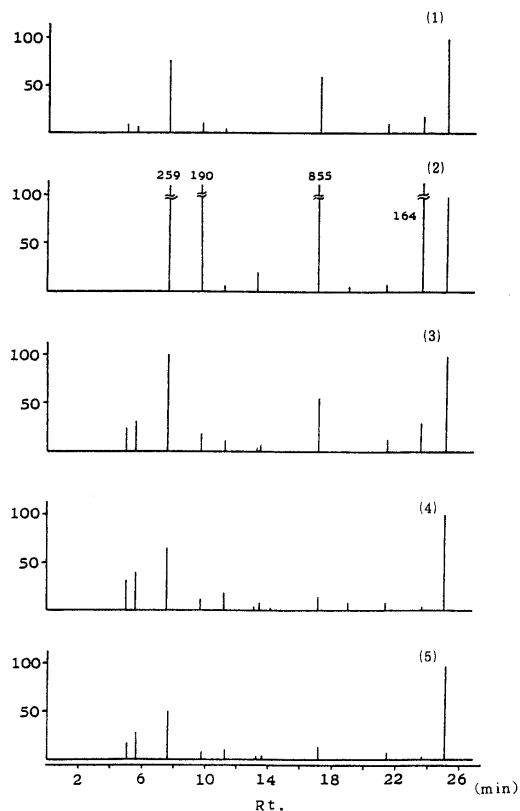


Fig.10 Gaschromatograms of Pyrolysate of modified starches

- (1) : Starch phosphate (wheat, cross linked)
- (2) : Starch phosphate & carbamate (corn, ester)
- (3) : Starch diethyl amino ethyl ester (corn, ester)
- (4) : Starch epichlorohydrin (waxy corn, cross linked)
- (5) : Waxy corn starch : starch epichlorohydrin=40 : 60

でん粉とでん粉誘導体では異なったパターンを示す。これらの結果から、各種でん粉誘導体の鑑別の可能性を知った。しかし、極めて低置換度のでん粉誘導体と未処理でん粉は類似した挙動を示し、これらの方法では両者の区別は極めて困難と考えられる。

文 献

- 1) 見沼圭二, 鈴木繁男: 化学と生物, **6**, 602, (1968)
- 2) 水城勝美, 出来三男: 本誌, **17**, 51, (1977)
- 3) 川端省三, 井上昭朗: 本誌, **22**, 55, (1981)