

ノート

でん粉及びでん粉誘導体混合物の分析

松 代 康^{*}, 矢ヶ崎 国 秀^{**}

Analysis of Mixture of Starch and Starch Derivatives

Yasushi MATSUSHIRO^{*} and Kunihide YAGASAKI^{**}

^{*}Kobe Customs Laboratory

12 - 1, Shinko - cho, Chuo - Ku, Kobe - shi, 650 Japan

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

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

Discrimination between pure starch acetate with low degree of acetyl - substitution and starch mixture prepared to be of same substitution degree by adding highly substituted starch acetate was studied by means of infrared absorption, saponification, Brabendar Viscography and degradation by glucoamylase.

Both infrared absorption and saponification method were not suitable for the identification of pure starch acetate and the mixture of raw starch and starch acetate because merely a total amount of acetyl group was measured.

Brabendar Viscograph was useful for the identification of these starches.

Degradation behavior of the starch acetate by glucoamylase was differed from that of the mixture. The mixture was more degraded than the starch acetate.

The correlation between the degradation ratio and the starch acetate content in the mixture was obtained.

- Received May 25, 1990 -

1 緒 言

でん粉及びでん粉誘導体等は、食品工業等で広く用いられており、その輸入量も多く、税関分析にとって重要な分析品目の一つである。これらのでん粉は、関税率表上及び輸入制度上の取扱いが異なることから分析が必要となり、種々の分析法が報告されている。

最近、でん粉にでん粉誘導体の一種であるアセチル化でん粉を混合したものが輸入された事例が報告された。

このような物品は、いくつかの関税率表上の分類が考えられることから、混合物が否か及び混合割合の分析が必要である。

通常、アセチル化でん粉の分析は、赤外線吸収スペクトル法及びけん化法による置換度（ds）の測定等に行っているが、このような混合でん粉の場合、これらの方で混合物が否かの判別及び混合割合の分析をす

^{*}神戸税関輸入部分析部門 〒650 神戸市中央区新港町 12 - 1

^{**}大蔵省関税中央分析所 〒271 千葉県松戸市岩瀬 531

ることはできない。

そこで今回、上記二者の方法による分析に加え、加水分解酵素（グルコアミラーゼ）による分解挙動による分析方法について検討した。グルコアミラーゼはでん粉の加水分解酵素の一つで、でん粉の α -1,4 結合と α -1,6 結合を、非還元性末端から順次グルコース単位で分解する¹⁾。アセチル化でん粉にグルコアミラーゼを作用させると、アセチル基で置換されたグルコースを含む α -1,4 グルコシド結合は分解されない²⁾ので、グルコアミラーゼを作用させても糖エステルを含む未分解の糖鎖が多く残り、置換度の増加にしたがいアセチル化でん粉の分解率が低くなる³⁾ことが関川ら²⁾により報告されている。ところで、でん粉とアセチル化でん粉の混合物にグルコアミラーゼを作用させると、未置換のグルコース鎖が多くあるので、アセチル基総量が同じアセチル化でん粉よりも高い割合でグルコースが分解生成され、アセチル化でん粉よりもでん粉に近い分解挙動を示すと予想され、アセチル化でん粉と混合でん粉の判別に利用できると考えられる。

また、ブラベンダービスコグラムについても検討したので合わせて報告する。

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 34.5U/mg，生化学工業製）

でん粉：ばれいしょでん粉（関東化学社製）

ハーネス試薬：常法により調製したもの

その他：0.1N～0.2N 水酸化ナトリウム，0.45N 水酸化ナトリウム，0.2N 酢酸緩衝液，希硫酸，フェノールフタレイン（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 アセチル化でん粉の合成及び精製²⁾

500ml のピーカーにでん粉 70g を採取し、脱イオン交換水 200ml を加えてスラリーとした後、攪拌機で攪拌しながら 30 時間の恒温槽に 1 時間放置した。その後ピーカーを取り出し、スラリーに pH 電極を入れ、0.1～0.2N 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徐々に添加し、室

温で 30 分間反応を行なった。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。反応終了後、スラリーを希硫酸で pH5.8 に調整し、多量の脱イオン交換水で数回洗浄したのち、セルロース透析チューブ（VISKASE SALES 社製 孔径 24Å）に入れ、脱イオン交換水で 3 日間透析を行ない、遊離の塩類を除去し、風乾した。

なお、アセチル基置換度の調整は無水酢酸の仕込み量（0.4～6ml）を変えることにより行ない置換度の異なる 6 種類のアセチル化でん粉を合成した。

2.3 混合でん粉の調製

でん粉と比較的高い置換度（ds 0.0794）のアセチル化でん粉 Table. 1 に示した割合で量り取り、水に分散させスターラーで攪拌し、脱水、風乾した。

Table. 1 Composition of Mixture of Raw Starch and Starch Acetate

	Raw starch(%) (dry base)	Starch acetate(%) (dry base, ds 0.0794)
①	89.3	10.7
②	84.0	16.0
③	78.7	21.3
④	73.5	26.5

ds : degree of substitution

以下、①を 10.7%、②を 16.0%、③を 21.3%、④を 26.5%の混合でん粉と表す。

2.4 赤外線吸収スペクトルの測定

合成したアセチル化でん粉及び混合でん粉の赤外線吸収スペクトルを KBr 錠剤法により日立 IR - 295 型赤外分光光度計で測定した。

2.5 アセチル基の置換度の測定

合成したアセチル化でん粉の置換度及び混合でん粉の見掛け上の置換度をけん化法²⁾により求めた。

2.6 粘度の測定

合成したアセチル化でん粉及び混合でん粉の粘度をベラベンダー社製のビスコグラフにより測定した。条件は試料乾燥重 10g を 450ml の水で測定容器に流し

込み、液温が 30 の定温になってから 5 分間保持した後、毎分 1.5 で 92 まで昇温し、92 で 15 分間保持した。

2 . 7 加水分解酵素（グルコアミラーゼ）による分解挙動

合成したアセチル化でん粉又は混合でん粉を試料 0.5g（乾燥重量換算）を脱イオン交換水に分散させ 100ml のメスフラスコに定容する。ピーカーに移しスターラーで攪拌しながら 10ml ホールピペットで分取し、30ml の栓つき三角フラスコに移す。三角フラスコに冷却管をつけ沸騰水浴中で 1 時間加熱してアルファー化する（均質にアルファー化するように時々よく振り混ぜる）。放冷後、0.2M 酢酸緩衝液（pH 4.8）に溶解したグルコアミラーゼ（約 8.3U / ml）を 2ml 加え、37 の恒温槽で 2.5 時間振とうしながら反

応させる。100ml のメスフラスコに定容し、5ml をホールピペットで分取して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消費量（生成した還元糖量に比例する）から分解率の検討を行なった。

3 結果と考察

3 . 1 合成アセチル化でん粉の置換度（ds）と赤外線吸収スペクトル

合成した 6 種類のアセチル化でん粉の置換度をけん化法で測定した結果を Table. 2 に示す。それぞれの赤外線吸収スペクトルを Fig.1 に示す。でん粉の吸収のほか、1730cm⁻¹付近に置換度に応じてアセチル基のエステルの C=O 伸縮振動による吸収が認められる²⁾。

Table. 2 Degree of Substitution (ds) of Synthesized Starch Acetate Determined by Saponification Method

	A	B	C	D	E	F
Added acetic anhydride(ml)	0.4	0.8	1.1	1.5	3	6
ds	0.0057	0.0113	0.0156	0.0203	0.0351	0.0794

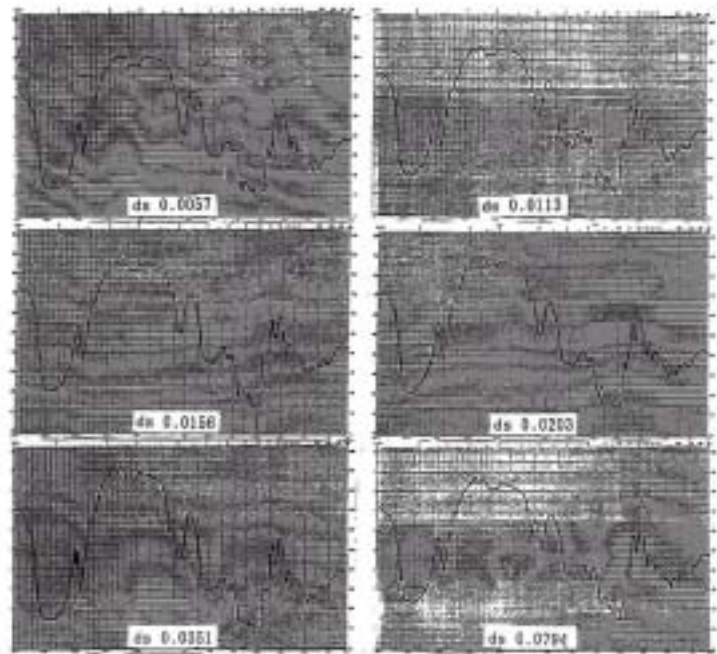


Fig. 1 Degree of Substitution and Infrared Spectra of Synthesized Starch Acetates

3.2 混合でん粉のけん化法による見かけ上の置換度

混合でん粉の置換度をけん化法で測定した結果を

Table. 3 に示す。これらの値は混合したアセチル化でん粉の置換度に混合割合を乗じた値に近似する値となる。

Table. 3 Degree of Substitution(ds) by Saponification Method and Calculated of Mixture of Starch and Starch Acetate

starch acetate (ds 0.0794)/content	saponification method	calculated
10.7%	0.0076	0.0085
16.0%	0.0127	0.0127
21.3%	0.0157	0.0169
26.5%	0.0205	0.0210

3.3 合成アセチル化でん粉と混合でん粉の赤外線吸収スペクトル

Fig.2 の左列の赤外線吸収スペクトルは各種置換度

の合成アセチル化でん粉、右列の赤外線吸収スペクトルは混合でん粉のものである。

左右に合成アセチル化でん粉の置換度と混合でん粉

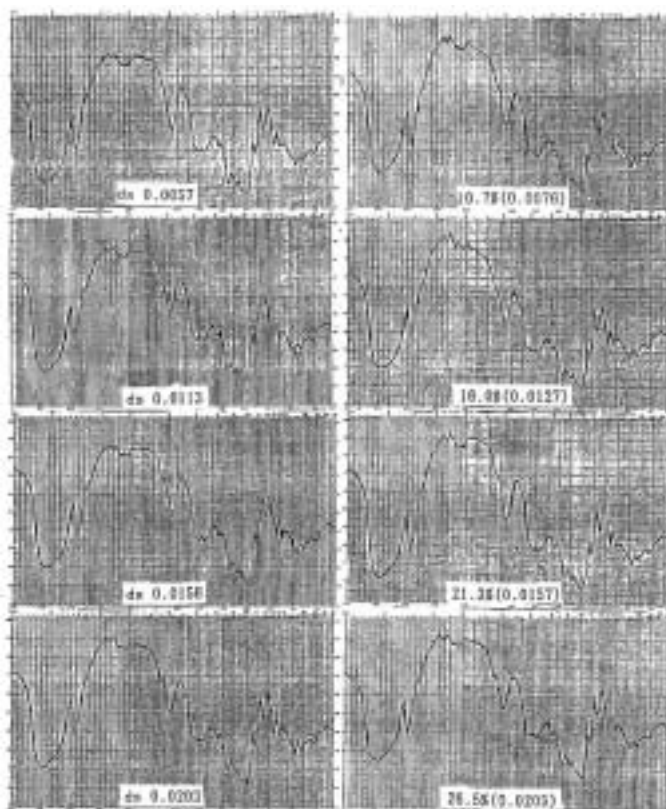


Fig. 2 Infrared Spectra of Synthesized Starch Acetates

Infrared Spectra of Mixture of Starch and Starch Acetate (ds 0.0794)

の見掛け上の置換度が同様のものを並べた。合成アセチル化でん粉の置換度と混合でん粉の見掛け上の置換度が同様のものは赤外線吸収スペクトルにおいても 1730cm^{-1} 付近の吸収は同様の強さとなる。

このように赤外線吸収スペクトル及び 3.2 のけん化法の結果では試料中のアセチル基の総量に応じた結果が得られるので、均一なアセチル化でん粉とそれと同様なアセチル基総量を有する混合でん粉の判別はできない。

3.4 ブラベンダービスコグラム

Fig. 3 に未処理でん粉，アセチル化でん粉及び混合

でん粉のブラベンダービスコグラムを示す。未処理でん粉とアセチル化でん粉では最高粘度が異なり，置換度が高くなるほど最高粘度が大きいく，また粘度上昇スピードも早くなり，糊化開始時間も早くなる。混合でん粉のブラベンダービスコグラムは混合率が低い 10.7%の混合でん粉のものは生でん粉に近い形を示し，26.5%のものでも最高粘度はアセチル化でん粉より低い。置換度および見掛け上の置換度が同程度のアセチル化でん粉と混合でん粉では明らかに粘度挙動が異なり，両者の物理的特性に違いがあることがわかる。

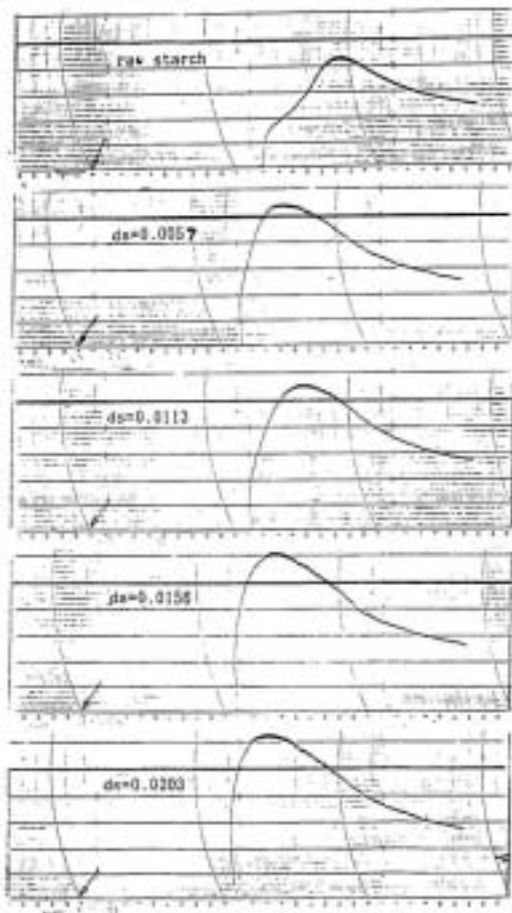
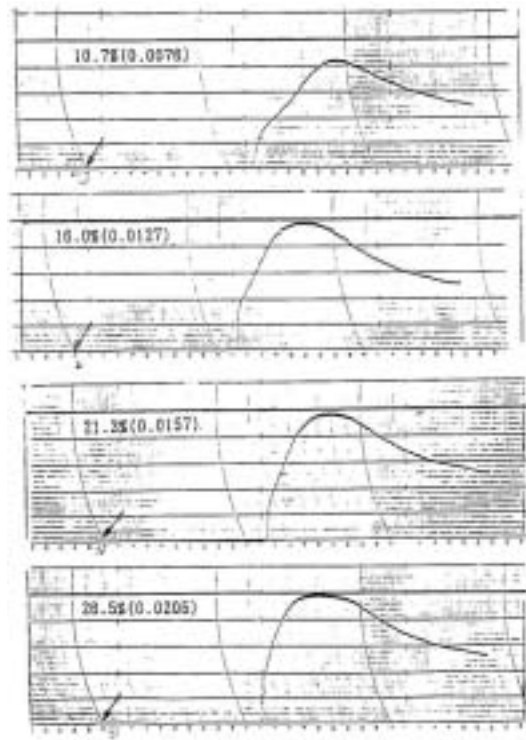


Fig. 3 Brabender Viscogram of
Starch and Starch Acetate



Brabender Viscograms of Mixture of Starch and
Starch Acetate (ds0.0794)

10g (dry base) / 450ml water

30 92 (15min.) up rate 1.5 / min. 75 rpm

3.5 合成アセチル化でん粉のグルコミラーゼによる分解挙動

Fig. 4 に各種置換度のアセチル化でん粉をグルコミラーゼで分解したときの置換度と N / 100 チオ硫酸ナトリウム溶液消費量の関係を示した。置換度の増加に従い、グルコミラーゼによる分解率が低下している。直線関係ではなくカーブを描く。すなわち、低置換度に於いては置換度差によって大きく分解率が異なるが、高い置換度に於いては置換度の差による分解率の変化は比較的少ない。このことは分解され得る末端グルコース鎖の長さが低置換度においては置換度によって大きく変化するが、比較的高い置換度においては分解され得る末端グルコース鎖の長さが極小となり置換度による分解率の差は生じにくくなるためと考えられる。

3.6 混合でん粉のグルコミラーゼによる分解挙動

Fig.5 に合成アセチル化でん粉の置換度及び混合で

ん粉の見掛け上の置換度と、それぞれの N / 100 チオ硫酸ナトリウム溶液消費量の関係を示す。アセチル化でん粉と混合でん粉では置換度が同程度であってもチオ硫酸ナトリウムの消費量が異なり、混合でん粉はより多く分解され未処理のでん粉に近い挙動を示す。このことは、アセチル化でん粉と混合でん粉の判別に利用できよう。これは、比較的低置換度のアセチル化でん粉においては、グルコミラーゼによる分解率は、置換度により変化する分解され得る末端グルコース鎖の長さにより決まるのに対し、比較的高い置換度のアセチル化でん粉を含む混合でん粉の場合は、未処理でん粉とアセチル化でん粉との混合割合によって分解率が決まるためと考えられる。

Fig. 6 に混合でん粉の混合割合と N / 100 チオ硫酸ナトリウム消費量の関係を示す。混合でん粉の混合割合と N / 100 チオ硫酸ナトリウム消費量はよい直線関係を示し、相関係数を求めた結果 $r = 0.995$ で両者の間には良好な相関関係が認められる。

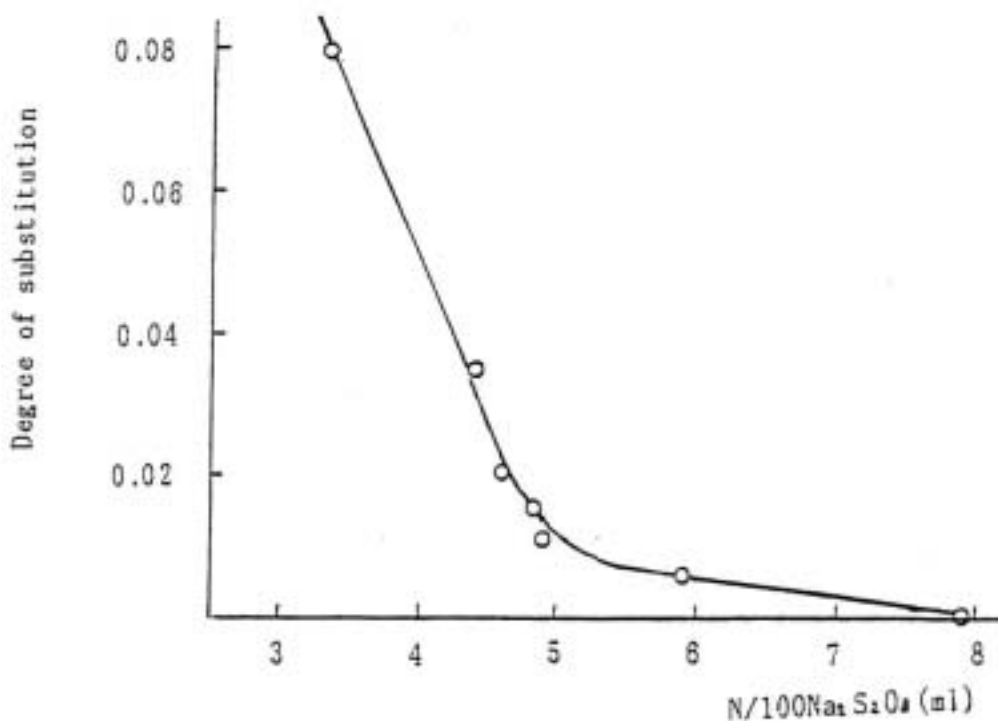


Fig. 4 Relationship between degree of Substitution and Volume of N / 100 Na₂S₂O₃

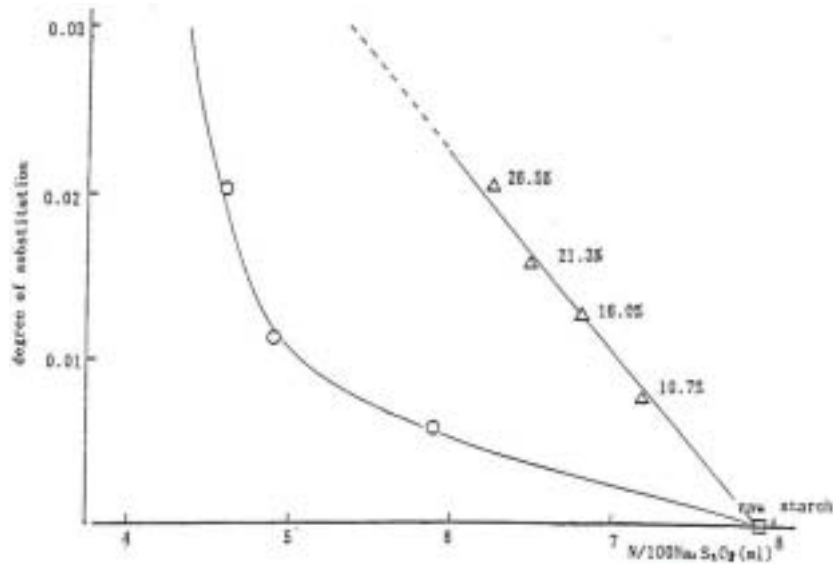


Fig. 5 Relationship between Degree of Substitution and Rate of Hydrolysis by Glucoamylase
Starch acetates
Mixture of starch and starch acetate (ds0.0794)

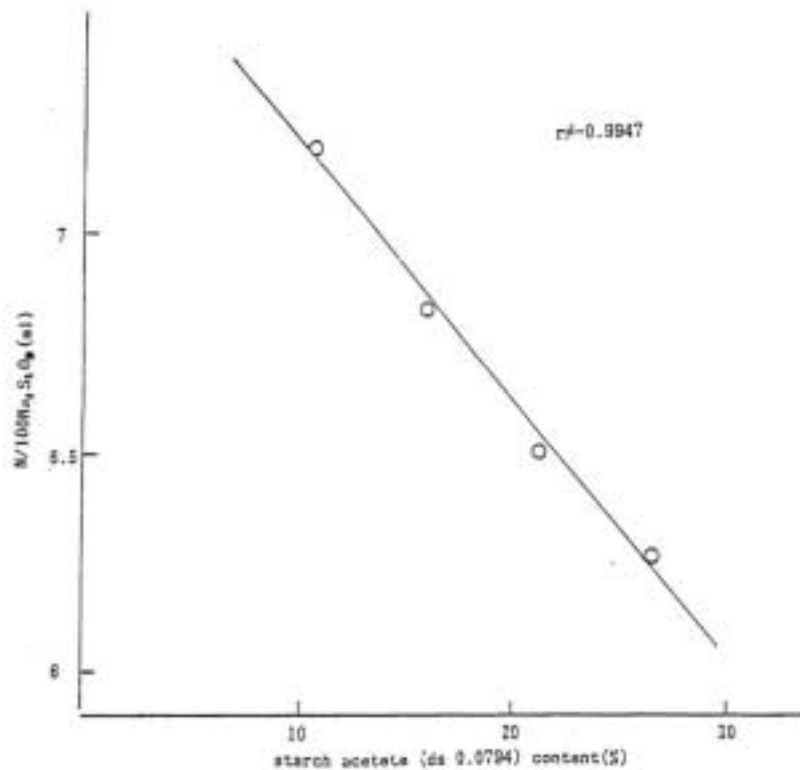


Fig. 6 Relationship between Rate of Hydrolysis by Glucoamylase and Starch Acetate Content in Mixture of Starch and Starch Acetate (ds0.0794)

4 要 約

アセチル化でん粉及びでん粉とアセチル化でん粉の混合物の分析を赤外線吸収スペクトル，けん化法，ブラベンダービスコグラム，グルコアミラーゼ分解により行ない，アセチル化でん粉と混合でん粉の判別及び混合でん粉の混合割合が求められるか否かを検討した。

赤外線吸収スペクトル，けん化法では試料中のアセチル基の総量に応じた結果が得られるので，置換度はわかるがアセチル化でん粉と混合でん粉の判別はできない。

ブラベンダービスコグラムは，アセチル化でん粉と混合でん粉の判別に有効である。

未処理でん粉及び各種置換度のアセチル化でん粉をグルコアミラーゼで分解すると，置換度の増加にしたがい分解率が低下する。各種混合でん粉のグルコアミラーゼによる分解挙動は，見かけの置換度（けん化法若しくは計算による）が同程度のアセチル化でん粉よりも分解率が高く，未処理でん粉に近い分解挙動を示し，アセチル化でん粉と混合でん粉の判別が可能であることを示す。また，混合割合と分解率の間に良好な相関関係が認められた。

文 献

- 1) 二國二郎，中村道徳，鈴木繁男：澱粉科学ハンドブック朝倉書店（1977）
- 2) 関川義明，嶋田勝：本誌，27，1（1986）
- 3) 鈴木繁男，中村道徳：澱粉化学実験法，朝倉書店（1979）