

ノート

還元でん粉分解物の分析

島野久則, 榎本康敬, 伊藤茂行, 早野弘道*

Analysis of Hydrogenated Starch Hydrolysates

Hisanori SHIMANO, Yasuyuki ENOMOTO, Sigeyuki ITO, Hiromichi HAYANO*

*Tokyo Customs Laboratory

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

To determine the content of hydrogenated starch hydrolysates is important for the proper classification of the sugar preparation made up of sucrose, dextrin and hydrogenated starch hydrolysates on the Customs Tariff Schedules. Mainly using thin - layer chromatography and high - performance liquid chromatography, the fundamental investigations on hydrogenated starch hydrolysates were carried out with the aim of establishing the measuring method of hydrogenated starch hydrolysates in the sugar preparations of that kind.

The detection of maltitol by thin - layer chromatography and high - performance liquid chromatography was available for the confirmation whether hydrogenated starch hydrolysates were contained in the sugar preparation or not, because quantites of maltitol were found in most of hydrogenated starch hydrolysates. Hydrogenated starch hydrolysates were broken up to one molecule of maltitol and some molecules of glucose by the hydrolyses with amylase. It was too difficult to determine the hydrogenated starch hydrolysates content directly in the sugar preparation stated above, but the comparison between the maltitol content in the sugar preparation and that in the hydrogenated starch hydrolysates used as the raw materials would be expected to enable the indirect determination of their content in the sugar preparation.

1 緒言

還元でん粉分解物 (Hydrogenated Starch Hydrolysates) は還元水飴とも呼ばれ、工業的には原料でん粉を酸又は酵素を用いて加水分解した後に還元(水素添加)することによって製造される。還元でん粉分解物の構造は、デキストリンの構造を $\text{O} \rightarrow 1, 4 - \text{glucopyranosyl D - glucose}$ と表した場合、 $\text{O} \rightarrow 1, 4 - \text{glucopyranosyl D - sorbitol}$ と表すことができる。還元でん粉分解物は糖アルコールの一種として、食品工業において低カロリー甘味料、ダイエット食品基剤、品質改良剤、保湿剤など広く用いられている。¹⁻³⁾

従来から、砂糖にデキストリンを加えた砂糖調製品の輸入事例が多く見られるが、デキストリンの含有量及びDE(ぶどう糖として計算した還元糖の乾燥状態における含有量)によって関税率表上の分類が異なり、大きな税率格差が生じる場合があ

る。最近では、このような砂糖調製品にさらに還元でん粉分解物を加えた調製品の輸入事例が増加しつつある。この場合、還元でん粉分解物の含有量がある基準値以上の場合は第21類に分類されるが、その基準値未満の場合には共存するデキストリンの含有量及びDEによって第21類又は第17類のいずれかに分類されることになる。

したがって、砂糖調製品中の還元でん粉分解物の定量は税表分類上重要であるが、その性状及び分析法は十分に把握されていないのが現状である。ここでは、還元でん粉分解物とデキストリンが共存している砂糖調製品において、それぞれの含有量及びデキストリンのDEを求めることの可否について検討するために還元でん粉分解物について基礎的な検討を行ったのでその結果について報告する。

*東京税関業務部分析部門 〒108 東京都港区港南5 - 5 - 30

2 実 験

2. 1 試料

還元でん粉分解物 HSH - A, HSH - B, HSH - C, HSH - D
(それぞれ国産品)

デキストリン DE2 ~ 5, 8 ± 1 , 11 ± 1 , 25 ± 1 の4種類 (それぞれ国産品)

糖及び糖アルコール標準品(入手可能なものについては試薬特級品を使用)

しょ糖,ぶどう糖,麦芽糖,マルトトリオース,マルトテトラオース,マルトペンタオース,マルトヘキサオース,マルトヘプタオース,ソルビトール及びマルチトール

2. 2 酵素による加水分解

還元でん粉分解物 0.1g を蒸留水 10ml に溶解し, アミラーゼ溶液 (0.2M 酢酸緩衝液 (pH4.80) にグルコアミラーゼ及び - アミラーゼを溶解したもので, グルコアミラーゼ 50 unit / ml 及び - アミラーゼ 1,000unit / ml をそれぞれ含有する。) 1ml を加え, 45 ° で 2hr 反応させた。

2. 3 定性分析

2. 3. 1 赤外線吸収スペクトル法

還元でん粉分解物及びデキストリンは, 70 ° , 減圧下にて乾燥後, KBr 錠剤法にて赤外線吸収スペクトルを測定した。

2. 3. 2 薄層クロマトグラフィー

還元でん粉分解物及びデキストリンは水分率を考慮して 10% 水溶液を調製し, シリカゲルプレート (メルク製, Kieselgel 60 F₂₅₄) にスポットした。対照として糖及び糖アルコール標準品も同時にスポットした。展開液にはクロロホルム / メタノール / 水 = 60ml / 40ml / 8ml を使用した。展開後のプレートを風乾後発色剤を噴霧し, 105 ° の乾燥器中で加熱し, 糖及び糖アルコールの各スポットを検出した。発色剤にはジフェニルアミン / アニリン / アセトン / リン酸 = 2g / 2ml / 100ml / 15ml を使用した。

2. 3. 3 高速液体クロマトグラフィー

実験に使用した高速液体クロマトグラフの構成を以下に示す。

インテリジェントポンプ L - 6200型 (日立)

スタートスイッチ付サンプルインジェクタ (日立)

カラム恒温槽 655A - 52型 (日立)

示差屈折率検出器 SE - 61型 (昭和電工)

溶存ガス除去装置 DEGAS KT - 35型 (昭和電工)

クロマトデータ処理装置 D - 2500型 (日立)

分析条件として以下の条件を定めた。試料濃度は還元でん粉分解物及びデキストリンの水分率を考慮して 1% 水溶液とし, 注入量は 5 μ l とした。

分離カラム Ionpak KS - 802 (昭和電工) 8 × 300mm

溶 離 液 H₂O 0.8ml / min

カラム温度 80

各ピークの同定は糖及び糖アルコール標準品の保持時間によって行った。

2. 4 定量分析

2. 4. 1 高速液体クロマトグラフィーによるソルビトール及びマルチトールの定量

2. 3. 3 に示した条件で, エチレングリコールを内部標準として還元でん粉分解物中のソルビトール及びマルチトールの定量を行った。検量線の作成方法としては, ソルビトール及びマルチトールをそれぞれ 5g / 100ml 含有する水溶液を調製し, 100ml メスフラスコにその溶液の 5ml, 10ml 及び 15ml を採り, 5g / 100ml エチレングリコール水溶液 10ml を加えて, 定容し, 検量線作成用の試料とした。注入量を 5 μ l とし, 検量線を作成した。この場合の検量線の範囲はソルビトール及びマルチトールのそれぞれにおいて, 0.25 ~ 0.75g / 100ml である。

2. 4. 2 フェーリング液を用いた逆滴定法による還元糖の定量

デキストリン中の還元糖の定量はレイン・エイノン法による⁴⁾ ことになっているが, デキストリン中の還元糖の含有量が少ない場合, 試料採取量が大きくなり, 滴定液の濃度や粘性が大きくなるなど測定が困難になることが多い。還元糖の含有量が少ない場合でも測定を簡便に行う方法として, フェーリング液を用いた逆滴定法が武藤⁵⁾ によって報告されている。この方法の特長として, 試料採取量が少ない点, 測定対象である糖の標準液を滴定液として用いる点, 多数の試料を連続的に測定できる点, フェーリング A 液の力価の標定を必要としない点などを挙げることができる。

実験ではこの逆滴定法を採用し, 還元でん粉分解物中の還元糖分の定量を行った。糖含有量として 10 ~ 50mg / 10ml となるように還元でん粉分解物の試料溶液を調製し測定に用いた。ぶどう糖標準液 (200mg / 100ml) を調製し滴定液とした。

2. 4. 3 酵素法によるぶどう糖の定量

ぶどう糖の定量はぶどう糖定量用試験 (和光純薬工業製, グルコース C - テストワコー) を用いて行った。検量線の作成には, ぶどう糖標準液 (10mg, 20mg / 100ml) を使用した。

酵素分解におけるぶどう糖量の変化は以下のようにして測定した。還元でん粉分解物の試料溶液 (1g / 100ml) を調製し, 200ml メスフラスコにその溶液の 10ml を採り, 2. 2 のアミラーゼ溶液 1ml を加え酵素分解を行い, 定容したものを分解後の検液とした。同様に, 200ml メスフラスコに試料溶液の 10ml を採り, 定容したものを分解前の検液とした。試料検液は検量線の範囲内になるように必要に応じて希釈操作を行ない, 両検液中のぶどう糖量の差から変化量を求めた。

3 結果及び考察

3.1 還元でん粉分解物の性状

還元でん粉分解物 HSH - A は、白色の粉末で水に可溶である。メタノールには不溶である。よう素 でん粉反応において、僅かに褐色を呈する。また、緩やかにではあるがフェーリング液を還元する。

還元でん粉分解物 HSH - B, HSH - C, HSH - D は、無色透明な粘稠性のある液体で水に可溶である。メタノールには分散

する。よう素 でん粉反応において、呈色を示さない。また、緩やかにではあるがフェーリング液を還元する。

3.2 赤外線吸収スペクトルの比較

還元でん粉分解物及びデキストリンの赤外線吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。両者のスペクトルパターンはよく類似しており、赤外線吸収スペクトルから還元でん粉分解物とデキストリンを区別することは困難と考えられる。

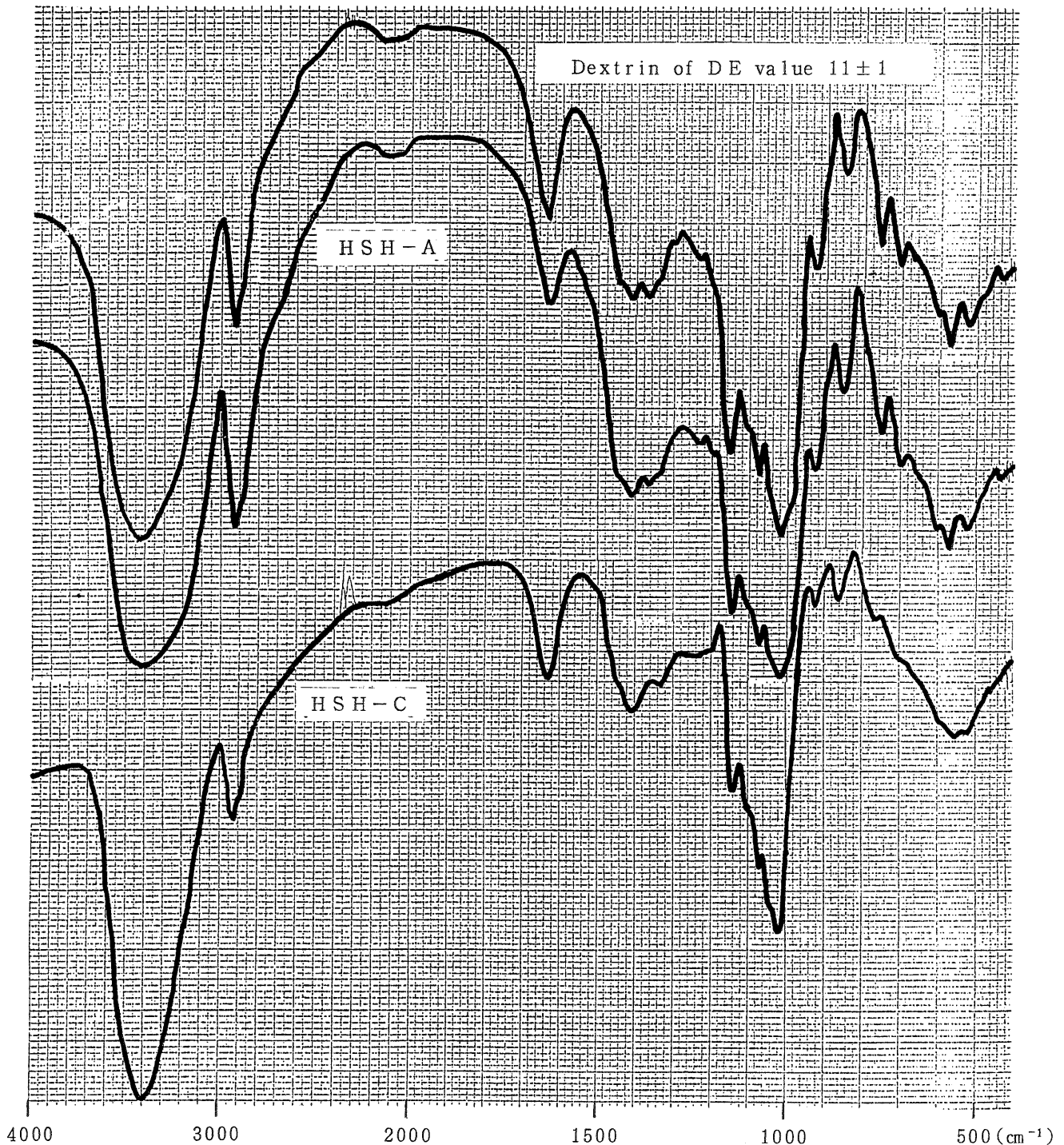


Fig. 1 Infrared absorption spectra of hydrogenated starch hydrolysates and of dextrin

3.3 還元でん粉分解物の薄層クロマトグラフィー

還元でん粉分解物の薄層クロマトグラムを Fig. 2 に示す。使用した発色剤ではソルビトールのスポットを検出することはできないが、発色剤に過マンガン酸カリウム溶液を使用して、還元でん粉分解物中にソルビトールが含まれていることを確認している。ソルビトール、マルチトール及び他の糖アルコール

のスポットが検出され、還元でん粉分解物はデキストリン同様に重合度分布を有する混合物であることが示唆された。薄層クロマトグラフィーにおいて、マルチトールは麦芽糖より Rf 値が小さく、発色までの加熱時間は麦芽糖の3~4倍程度必要であることから、還元でん粉分解物とデキストリンとを区別する際に、これらの性質を利用することは有効と考えられる。

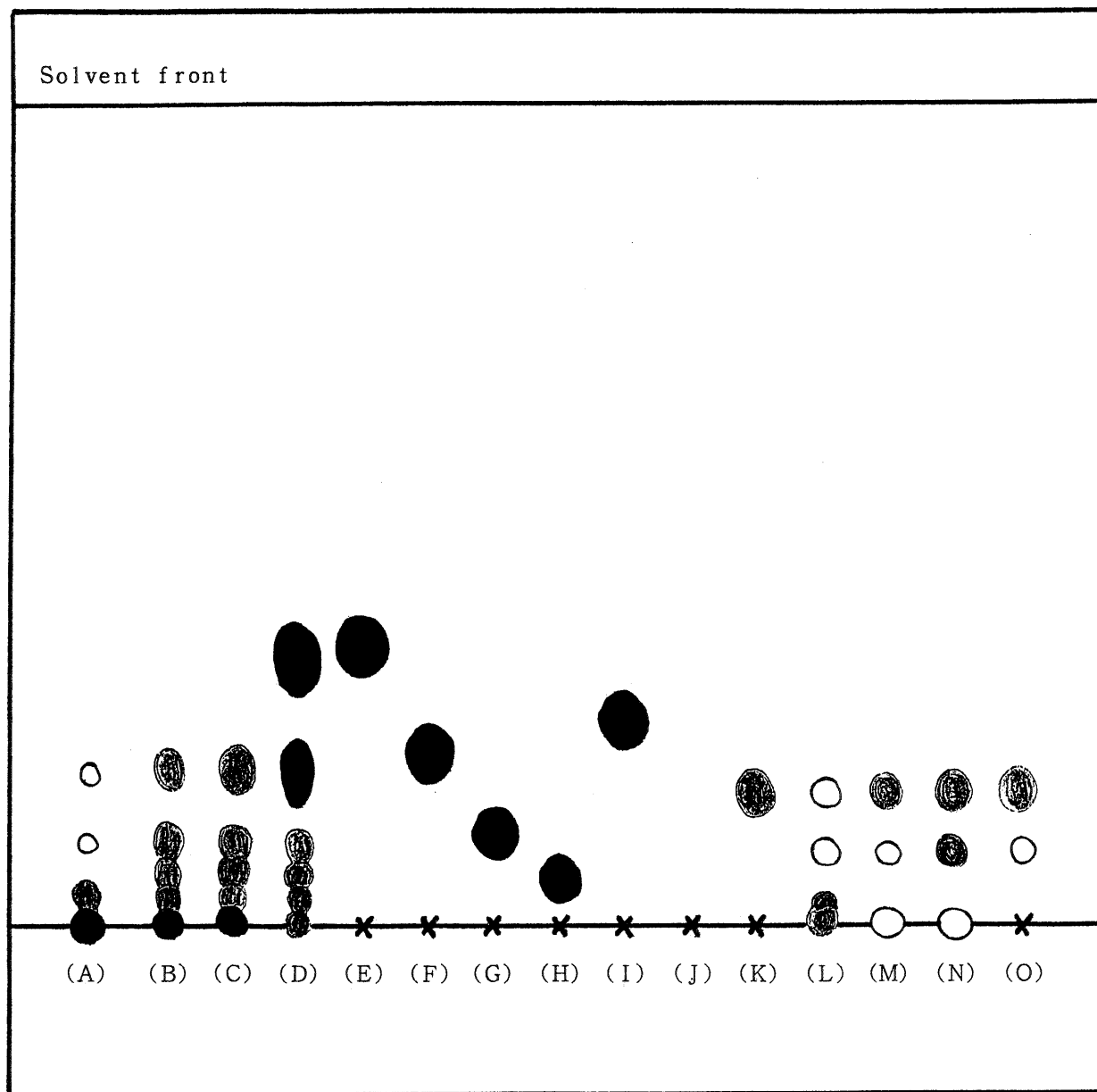


Fig. 2 Thin - layer chromatogram of hydrogenated starch hydrolysates

Dextrin

- (A) dextrin of DE value 2 ~ 5 (B) dextrin of DE value 8 ± 1
 (C) dextrin of DE value 11 ± 1 (D) dextrin of DE value 25 ± 1

Reference standard

- (E) glucose (F) maltose (G) maltotriose (H) maltotetraose
 (I) sucrose (J) sorbitol (K) maltitol

Hydrogenated starch hydrolysates

- (L) HSH-A (M) HSH-B (N) HSH-C (O) HSH-D

3.4 高速液体クロマトグラフィーによる還元でん粉分解物の分析

還元でん粉分解物の高速液体クロマトグラムを Fig. 3 に、相対面積百分率によって算出した糖アルコールの重合度分布を Table 1 に示す。還元でん粉分解物には重合度 6 以上の大きい部分に分布の主体があるもの (HSH - A) や、重合度 3 以下の小さい部分に分布の主体があるもの (HSH - B, HSH - C, HSH - D) があり、後者のものは重合度 1 ~ 3 の糖アルコールの含有量が異なるなどいくつかのタイプがあることが示唆された。

内部標準法によって定量したソルビトール及びマルチトールそれぞれの含有量を Table 2 に示す。乾燥状態におけるソルビトール及びマルチトールの含有量を Table 1 の値と比較するとほぼ一致しており、相対面積百分率によってもおおむね定量を行うことができると考えられる。また、ソルビトールの含有量

Table 1 Distribution of polymerization degree of sugar alcohols in hydrogenated starch hydrolysates by area normalization method

Degree of polymerization (DP)	HSH-A	HSH-B	HSH-C	HSH-D
1	5.3	43.2	5.3	2.1
2	8.9	34.1	64.5	75.1
3	9.8	12.7	21.6	17.3
4	7.4	0.8	1.1	2.2
5	6.9	0.2	1.7	2.4
6	11.6	0.0	0.0	0.7
7	30.0	5.5	3.5	0.0
8 +	20.3	3.5	2.3	0.2
Total	100.2	100.0	100.0	100.0

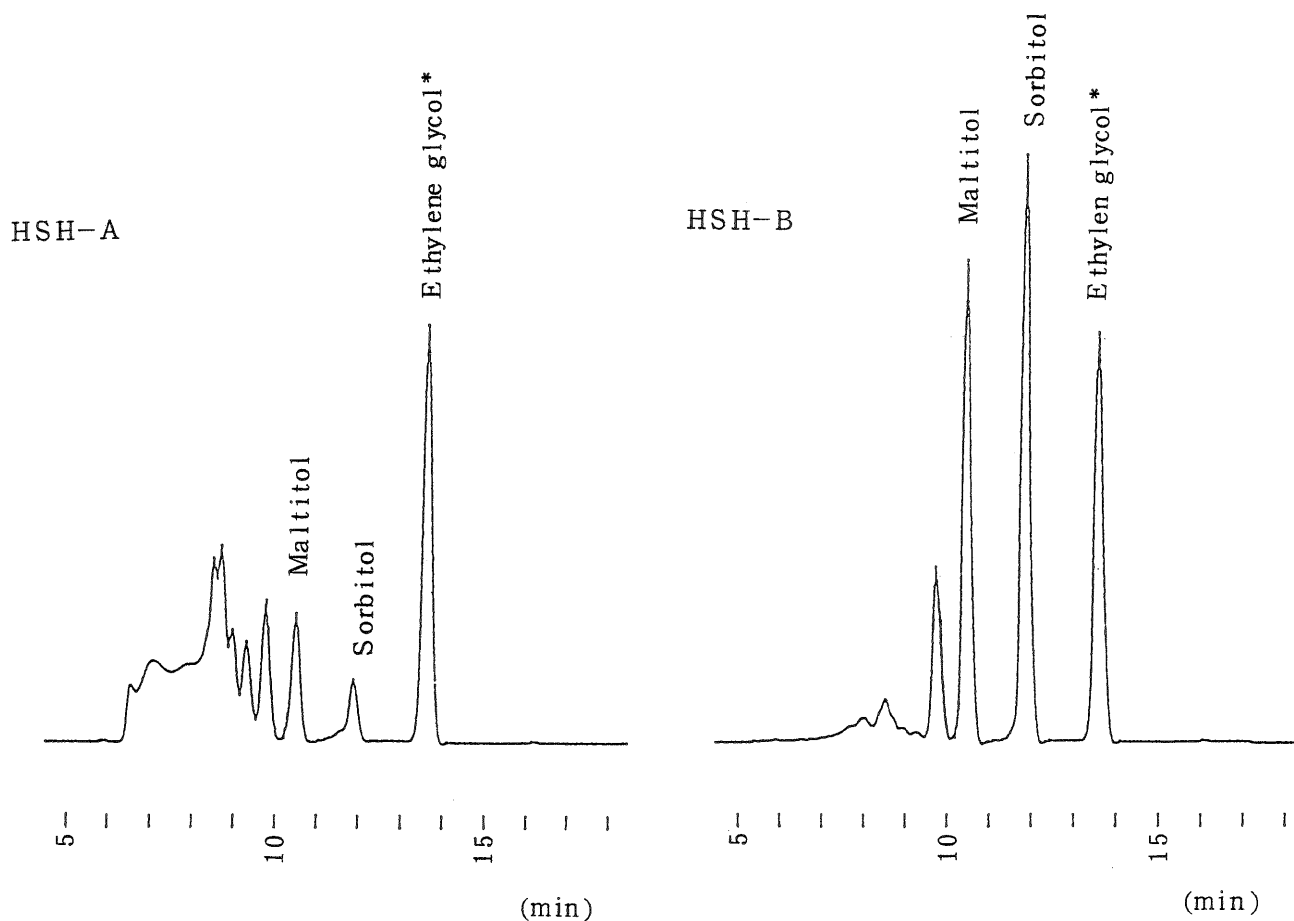


Fig. 3 High - performance liquid chromatogram of hydrogenated starch hydrolysates

*Ethylene glycol was used as the internal standard.

に比べマルチトールの含有量は少ないタイプのものでも乾燥状態において10%近くは含まれているので、還元でん粉分解物の確認又は定量の際においてマルチトールは有効な成分と考えられる。

3.5 還元でん粉分解物の DE の測定

3.1 において還元でん粉分解物がフェーリング液を還元するため、DE を測定した結果を Table 3 に示す。使用した還元でん粉分解物の DE は 1.7 ~ 3.7 で DE の低いデキストリン程度と示唆された。

Table 2 Each content of sorbitol and maltitol in hydrogenated starch hydrolysates

	HSH-A	HSH-B	HSH-C	HSH-D
DP 1				
Sorbitol	5.3% (5.6%)	32.3% (45.9%)	4.8% (6.8%)	3.5% (4.7%)
DP 2				
Maltitol	8.2% (8.7%)	23.7% (33.7%)	45.7% (65.2%)	57.7% (77.2%)

The values on the dry basis were given in the parentheses.

Table 3 DE value of hydrogenated starch hydrolysates

	HSH-A	HSH-B	HSH-C	HSH-D
Moisture*	5.8%	29.8%	29.9%	25.2%
Reducing sugar**	3.5%	1.2%	1.7%	2.0%
DE value	3.7	1.7	2.4	2.7

* dried under reduced pressure at 70°C to constant weight

**calculated as glucose

3.6 酵素による還元でん粉分解物の分解

デキストリンをアミラーゼ分解によって定量する際の共存する還元でん粉分解物への影響について調べるため、還元でん粉

分解物にアミラーゼを作用させた。還元でん粉分解物の組成変化を Fig. 4に示す。アミラーゼを作用させる前には検出された Oligo - 1, 4 - glucopyranosyl D - sorbitol のスポット

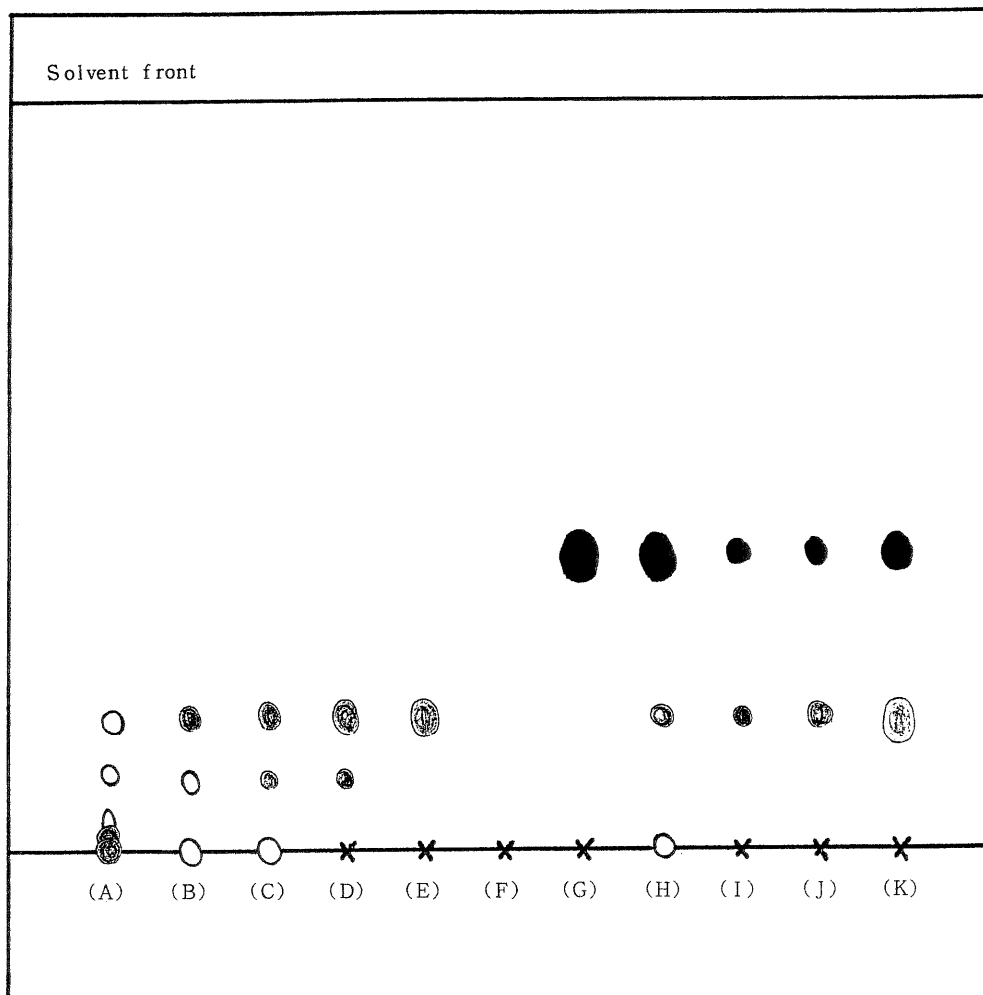


Fig. 4 Componential change of hydrogenated starch hydrolysates by hydrolyses with amylase

Before hydrolyses

(A) HSH-A (B) HSH-B (C) HSH-C (D) HSH-D

Reference standard

(E) maltitol (F) sorbitol (G) glucose

After hydrolyses

(H) HSH-A (I) HSH-B (J) HSH-C (K) HSH-D

が、作用させた後では検出されなかった。また、アミラーゼを作用させた結果マルチトールのスポットはより顕著になり、アミラーゼを作用させる前には検出されなかったぶどう糖の顕著なスポットも検出されている。したがって、アミラーゼの作用によってデキストリン同様に還元でん粉分解物も加水分解することが示された。なお、あらかじめマルチトールにアミラーゼを作用させてみてもぶどう糖は検出されないことを確認している。よって、還元でん粉分解物の分解生成物はマルチトール及びぶどう糖であることが示唆された。

また、還元でん粉分解物の加水分解前後のぶどう糖量の変化を Table 4 に示す。ぶどう糖増加量は一定ではなく、重合度の大きい糖アルコールを多く含有しているものほどぶどう糖の増加量は多かった。したがって、還元でん粉分解物共存下においてアミラーゼ分解によるぶどう糖の増加量からデキストリンを正確に定量することは困難であることが示唆された。

Table 4 Increase in glucose content by hydrolyses with amylase

	HSH-A	HSH-B	HSH-C	HSH-D
Before				
hydrolyses	0.01% (0.01%)	0.02% (0.03%)	0.03% (0.04%)	0.03% (0.04%)
After				
hydrolyses	60.7% (64.4%)	9.2% (13.1%)	10.9% (15.6%)	7.9% (10.6%)

The values on the dry basis were given in the parentheses.

4 要 約

還元でん粉分解物はデキストリンに類似した物品であるが、還元でん粉分解物中に含まれているマルチトールはソルビトールに比べて含有量が多く、還元でん粉分解物の存在を確認する際の指標として有効な成分と考えられる。また、その検出方法としては高速液体クロマトグラフィーに限らず薄層クロマトグラフィーでも可能である。

還元でん粉分解物はアミラーゼによって加水分解されマルチトール及びぶどう糖を生成するため、ぶどう糖の増加量から還元でん粉分解物共存下でデキストリンを定量することは困難である。

したがって、還元でん粉分解物とデキストリンが共存する砂糖調製品の場合、還元でん粉分解物及びデキストリンのそれぞれを直接定量し、さらにデキストリンの DE を測定することは困難である。しかし、原料還元でん粉分解物の提示がある場合には、試料中のマルチトールの含有量を原料中の含有量と比較することによって、間接的に試料中の還元でん粉分解物量を求めることが可能と考えられる。

文 献

- 1) 財団法人甘味資源振興会：昭和59年度低カロリー甘味料実態調査報告書（1985）
- 2) 二国二郎 監：澱粉科学ハンドブック，朝倉書店（1977）
- 3) 澱粉糖技術部会 編：澱粉糖関連工業分析法，食品化学新聞社（1991）
- 4) 関税中央分析所：参考分析法 No. 21（1985）
- 5) 武藤五生：本誌25, 75（1985）