

近赤外分光法によるりん酸架橋でん粉の分析

大崎 伸明*, 中山 清貴*, 松澤 昌夫*, 伊藤 茂行*

Analysis of Cross-linked Starch Phosphate by Near-infrared Spectroscopy

Nobuaki OSAKI*, Kiyotaka NAKAYAMA*, Masao MATSUZAWA*, Sigeyuki ITO*

*Kobe Customs Laboratory

12-1, Shinko-cho, Chuo-ku, Kobe, Hyogo 650-0041 Japan

For qualitative analysis of cross-linked starch phosphate, the sedimentation method provided in Customs Analytical Method No. 403 is currently used. Nevertheless, the method takes quite a long time to confirm sedimentation. To solve this problem, we studied qualitative and quantitative determination of cross-linked starch phosphate by using a near-infrared spectrometer (NIR) which would allow faster and easier measurement. Of cross-linked starch phosphate synthesized in the laboratory, near-infrared spectra were examined and the degree of cross-linking was measured by the Allen method but the raw spectra remained indistinguishable from one another, so multivariate analysis was carried out to analyze the spectra. As a result, we obtained a satisfactory prediction model showing a good correlation between the degree of cross-linking of the phosphorus content measured by the Allen method and the predicted one.

1. 緒 言

でん粉は、その糊化特性などにより幅広い分野で利用されており、さらにその特性を向上させるために、化学的な変性を行った変性でん粉がある。変性でん粉は、アルファー化でん粉、でん粉誘導体及びデキストリン等の種類があり、食品工業、化学工業などの分野で利用されている¹⁾。

でん粉は、Fig.1 に示すとおり、構成単位である 1 グルコース残基当たり 3 個の水酸基を有しているため、でん粉の分子間または分子内でエステル結合することが可能である²⁾。この中で、架橋剤としてトリメタリル酸ナトリウム若しくは、オキシ塩化りんを用いて分子間架橋したりん酸架橋でん粉が市場では一般的に用いられている。りん酸架橋でん粉は、高温加熱や機械的な攪拌に対して非常に安定であるため、増粘剤及び結着剤等として加工食品の製造に広く利用されている。

現在、でん粉は変性の有無により関税率表の分類が異なり、未処理でん粉が第 11.08 項（協定税率：119 円/kg）に分類されるのに対し、りん酸架橋でん粉は変性でん粉として第 35.05 項（協定税率：6.8%）に分類され、両者の間には大きな税率格差があり、税関分析により確認する必要がある。

現在、りん酸架橋でん粉の鑑別については、税関分析法 NO.403 「でん粉誘導体の分析法」に定められた沈降性の確認等により行っているが、この方法は、実験が煩雑で鑑別を行うまでに多大な

時間を要するという問題があった。

そこで、本研究では、迅速簡便に測定が可能な近赤外分光光度計を用い、りん酸架橋でん粉の定性及びりん酸架橋度の測定について検討したので報告する。

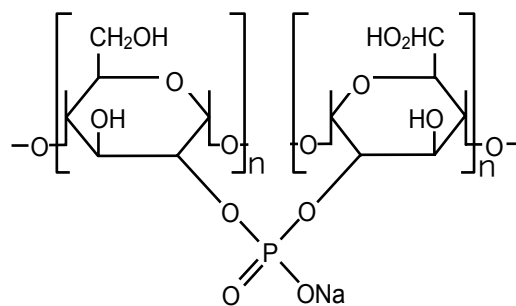


Fig. 1 Chemical structure of cross-linked starch phosphate.

2. 実 験

2. 1 試料及び試薬

2. 1. 1 標準試料

タピオカでん粉 : 輸入品

とうもろこしでん粉 : 和光純薬工業社製

りん酸架橋でん粉 : 松谷化学㈱提供

2. 1. 2 試薬（すべて和光純薬工業社製）

トリメタリル酸ナトリウム

アミドール

* 神戸税関業務部 〒650-0041 神戸市中央区新港町 12-1

亜硫酸水素ナトリウム
モリブデン酸アンモニウム
りん酸二水素カリウム
過塩素酸
硝酸

2. 2 装置及び分析条件

近赤外分光光度計：SPECTRUM NTS（Perkin Elmer 社製）
測定モード：積分球を用いた拡散反射法
波長範囲：10000 cm⁻¹～4000 cm⁻¹
分解能：16cm⁻¹
積算回数：64 回

以上の測定条件で、各試料に対して4回ずつ近赤外線スペクトルを測定した。

2. 3 実験方法

2. 3. 1 りん酸架橋でん粉の合成

りん酸架橋でん粉の合成は、Kerr らの方法に準拠し、架橋剤としてトリメタりん酸ナトリウムを用いて行った^{3), 4)}。合成方法は次のとおりである。

100ml 容のフラスコに、蒸留水 50ml を加え、トリメタりん酸ナトリウム及び炭酸ナトリウムを溶解し、未処理でん粉 20g を懸濁させる。さらに炭酸ナトリウムを加えて pH10.2 に調整した後、湯浴上で、50℃・5 時間攪拌しながら反応を行った。反応終了後、5% 塩酸で中和し、多量の水で数回洗浄後、風乾した。

また、合成したりん酸架橋でん粉の架橋度の調整は、トリメタりん酸ナトリウムの仕込み量を変えることにより行い、タピオカでん粉では 10 種類、とうもろこしでん粉では 8 種類の架橋度の異なったりん酸架橋でん粉及び対照としてトリメタりん酸ナトリウムを加えずに同様の反応を行ったでん粉を各 1 種類合成した。

2. 3. 2 試料の精製

2. 3. 1 で得られたりん酸架橋でん粉、合成に用いた標準試料及び輸入サンプルをセルロースチューブ（直径 28.6mm）に入れ、水道水で 3 日間透析を行い、遊離の無機物を除去した。風乾後、さらに 50℃・真空状態で乾燥したものを測定用試料とした。

2. 3. 3 りん酸架橋度の測定

合成したりん酸架橋でん粉等のりん酸架橋度は税関分析法 No.403 に定められたアレン法によって求めた。

2. 3. 2 で得られた測定用試料 1g に過塩素酸 10ml を加え、250℃で分解後、アミドール・亜硫酸水素ナトリウム水溶液及びモリブデン酸アンモニウム水溶液を加えて発色させ、分光光度計を用いて、530nm における吸光度を測定し、別途作成したりん酸二水素カリウムの検量線を用いて結合りん含有量を測定した。そして、りん酸架橋でん粉の結合りん含有量からトリメタりん酸ナトリウムを添加せずに合成を行った対照用サンプルの結合りん含有量を差し引いたものをりん酸架橋度とした。

2. 3. 4 近赤外スペクトルの測定

細かくすりつぶした測定用試料をガラス製のサンプル瓶に入れ、そのサンプル瓶を積分球の上部に乗せ、遮光状態で近赤外ス

ペクトルを測定した。

2. 3. 5 多変量解析による予測モデルの構築

測定した近赤外スペクトルの吸光度を変量データとして用い、多変量解析法の一つである PLS 回帰分析（Partial Least Squares Regression）を行った。PLS 回帰分析の計算には、多変量解析ソフトウェア「QUANT+」（Perkin Elmer 社製）を用いた。（なお、多変量解析及び PLS 回帰分析法については、ジーエルサイエンス社の「ケモメトリックス」を参照されたい。）

3. 結果及び考察

3. 1 りん酸架橋度

2. 3. 1 で得られたりん酸架橋でん粉のりん酸架橋度を Table 1 及び Table 2 に示した。ただし、No.0 はトリメタりん酸ナトリウムを添加せずに合成反応を行ったものである。

タピオカでん粉では、架橋剤の仕込み量の増加に伴い、りん酸架橋度もほぼ増加傾向にあるが、とうもろこしでん粉では、架橋剤を 0.15g 加えたものが一番高いりん酸架橋度を示した。このことから、原料でん粉の違いや攪拌ムラなどの要因によって、必ずしも架橋剤の仕込み量に伴ってりん酸架橋度が増加しないことがわかる。

Table 1 Bonding phosphorus content of cross-linked tapioca starch.

Sample No.	Amount of cross-linking agent (g)	Phosphorus content (%)	Bonding phosphorus content (%)
0	0	0.005854	
1	0.03	0.008350	0.002500
2	0.06	0.012266	0.006416
3	0.09	0.008349	0.002499
4	0.12	0.008688	0.002838
5	0.15	0.010790	0.004940
6	0.18	0.010471	0.004621
7	0.30	0.009252	0.003402
8	0.60	0.016209	0.010359
9	0.90	0.022448	0.016598
10	1.20	0.035687	0.029837

Table 2 Bonding phosphorus content of cross-linked cornstarch.

Sample No.	Amount of cross-linking agent (g)	Phosphorus content (%)	Bonding phosphorus content (%)
0	0	0.014445	
1	0.03	0.017676	0.003231
2	0.06	0.018414	0.003968
3	0.09	0.018753	0.004308
4	0.12	0.018729	0.004284
5	0.15	0.022210	0.007764
6	0.18	0.017657	0.003212
7	0.30	0.015536	0.001091
8	0.60	0.017561	0.003115

3. 2 近赤外スペクトル

合成したりん酸架橋でん粉及び合成に用いた標準試料の近赤外スペクトルを重ねてプロットしたものを Fig.2 及び Fig.3 に示した。

Table 1 及び Table 2 より、合成したりん酸架橋でん粉において、架橋度の差は、タピオカでん粉で最大約 12 倍、とうもろこしでん粉では最大約 7 倍存在するため、近赤外スペクトルに差が生じると想定されたが、スペクトル全体に大きな差は認められず、架橋度順に並ぶような特徴的な波長も特定することができなかった。

さらに、近赤外スペクトルの吸収バンドは赤外吸収に比べはるかに微弱であり、多数の倍音や結合音が一つの吸収バンドに重なること等からも、生スペクトルの状態では解析が難しいと考えられる。

そこで、測定した近赤外スペクトルに対して、多変量解析の手法を用い、りん酸架橋度の予測モデルの構築を試みた。

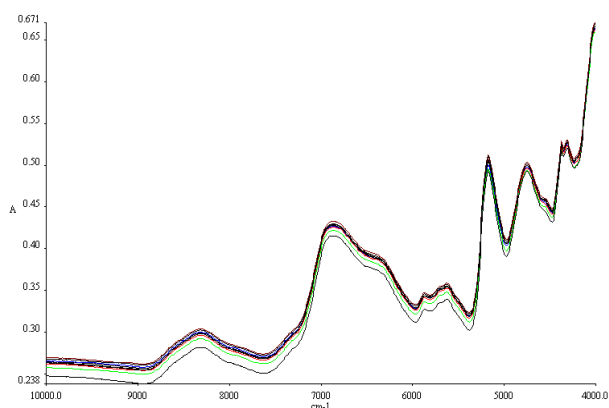


Fig. 2 NIR-spectrum of cross-linked tapioca starch phosphate.

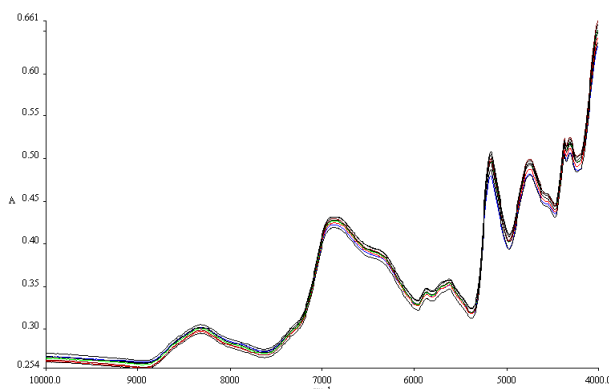


Fig. 3 NIR-spectrum of cross-linked cornstarch phosphate.

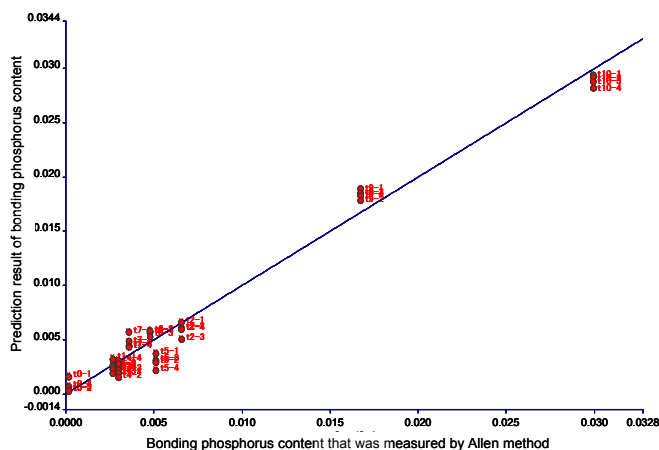


Fig. 4 Prediction equations of cross-linked tapioca starch phosphate.

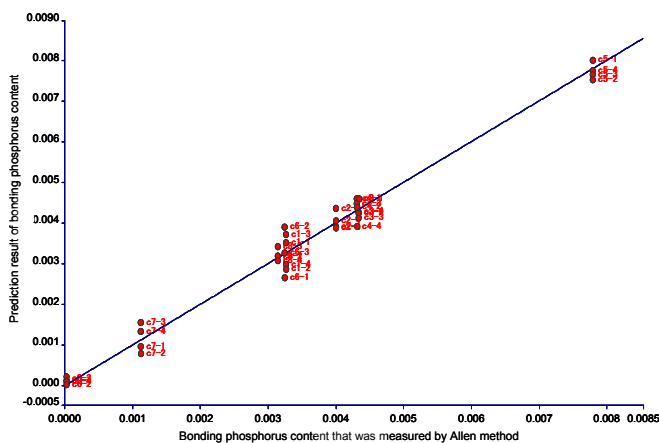


Fig. 5 Prediction equations of cross-linked cornstarch phosphate.

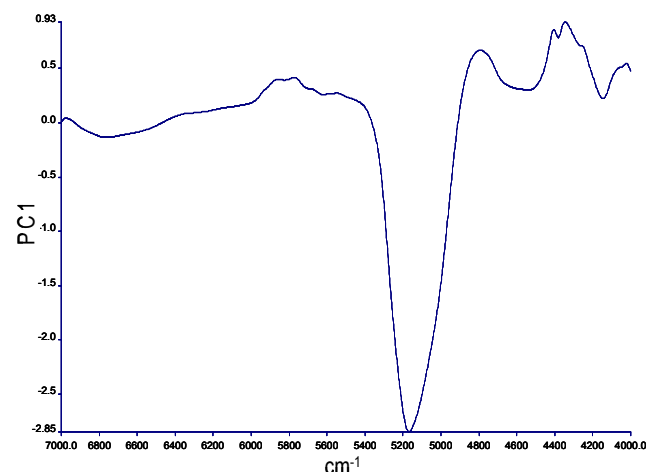


Fig. 6 Correlation spectrum of prediction equations; Fig. 4.

3. 3 多変量解析

近赤外スペクトルの吸光度を変数データ、Table 1 及び Table 2 に示したそれぞれのりん酸架橋度を目的変数とし、PLS 回帰分析法によりりん酸架橋度の予測モデルの構築を試みた。

Fig.4 及び Fig.5 に合成したりん酸架橋でん粉に対する PLS 回帰

分析の結果を示した。タピオカでん粉 (Fig.4) では、波長範囲：7000～4000 cm^{-1} 、主成分 5～8 を用いてりん酸架橋度を求めるモデルの構築を行ったが、Table 1 に示したりん酸架橋度と予測モデルが予測した値 (予測値) との相関係数が 0.9902 であり、良好な直線性を示した。

同様に、とうもろこしでん粉 (Fig.5) では、波長範囲：10000～4000 cm^{-1} 、主成分 7～12 を用いてモデルの構築を行ったが、Table 2 に示したりん酸架橋度と予測モデルが予測した値 (予測値) との相関係数が 0.9920 であり、良好な直線性を示した。

Fig.6 に Fig.4 の相関スペクトルを示した。これは、Fig.4 の予測モデルに強く寄与している波長を示している。5180 cm^{-1} に強い負の相関を示しているが、これは水酸基の吸収バンドとして知られており、りん酸架橋反応によるでん粉内の水酸基の減少を表しているものと考えられる。

しかし、5180 cm^{-1} を含む狭い範囲のみを選択し、モデル構築を行ったところ、良好な相関関係は得られなかったことから、水酸基以外の吸収の影響も大きいものと考えられる。

なお、一検体のみであるが、架橋度が未知のりん酸架橋タピオカでん粉の近赤外スペクトルを測定し、そのスペクトルに対して Fig.4 で示した予測モデルを適用してりん酸架橋度の予測を行った。その結果を Table 3 に示した。アレン法によるりん酸架橋度の実際値が 0.02184 に対して、予測モデルは 0.02523 と予測し、誤差率が 15% という結果が得られた。

Table 3 Prediction result.

	Bonding phosphorus content measured by Allen method ①	Prediction result ②	Difference (②－①) *100/①
A	0.02184	0.02523	15%

4. 要 約

近赤外分光法を用いたりん酸架橋でん粉の架橋度の定量について検討し、以下の知見が得られた。

- (1) タピオカでん粉、とうもろこしでん粉について、架橋剤としてトリメタりん酸ナトリウムを用いたりん酸架橋でん粉を合成し、アレン法を用いたりん酸架橋度の実際値と近赤外スペクトルの測定を行った。りん酸架橋度と近赤外スペクトルに対して、PLS 回帰分析を行い、りん酸架橋度の予測モデルを構築したところ、いずれも良好な相関を示した。
- (2) 一検体のみであるが、架橋度が未知のりん酸架橋タピオカでん粉の近赤外スペクトルに対して、作成した予測モデルを適用したところ、定量の可能性が示唆された。
- (3) 今後、異なる原料由来のりん酸架橋でん粉や輸入品の近赤外スペクトルをそれぞれの予測モデルに組み込むこと及び PLS 回帰分析に使用する波長範囲を特定することで、予測精度の向上をはかっていきたい。

(謝 辞)

本研究にあたり、試料を提供して頂いた松谷化学株式会社の山本晃氏並びに近赤外スペクトル測定及び多変量解析において、真摯な御指導、ご協力を頂きました株式会社パーキンエルマージャパン大阪支社の森本光彦氏に厚く感謝申し上げます。

文 献

- 1) 高橋禮治：“でん粉製品の知識”，(2000)，(幸書房)
- 2) 二國次郎監修，中村道徳，鈴木繁男編集：“澱粉科学ハンドブック”，(1977)，(朝倉書店)
- 3) 関川義明，大野幸雄：関税中央分析所報，**24**，17 (1983)
- 4) 氏原覚，関川義明，嶋田勝：関税中央分析所報，**27**，25 (1987)