

アルキルエーテル化でん粉の定性分析法について

小川 浩史*, 南館 正知*, 松本 啓嗣*

Qualitative analytical method for alkyl etherified starch

OGAWA Hirofumi*, MINAMIDATE Yoshitomo* and MATSUMOTO Yoshitsugu*

*Central Customs Laboratory, Ministry of Finance 6-3-5, Kashiwanoha, Kashiwa, Chiba, 277-0882 Japan

Alkyl etherified starch is a type of modified starch and is used in processed foods, etc. A qualitative analysis of modified starch is important because there is a large tax rate gap between modified and unmodified starch. Currently, the qualitative analysis of alkyl etherified starch is performed according to Customs Analysis Method No.403, but this analysis method has some problems. In this study, for the purpose of solving the problem, we investigated a new sample test solution preparation method, and the solvent, column, and analytical conditions in gas chromatography. As a result, we were able to establish a new sample test solution preparation method using a pressure-resistant container as the reaction vessel and Ortho dichlorobenzene as the solvent, and GC analysis conditions when DB-23, HP-INNOWax and DB-WAX were used as the column. When various alkyl etherified starches were analyzed using this newly-established method, qualitative analysis was possible. In addition, hydroxypropyl distarch phosphate could also be qualitatively analyzed.

1. 緒 言

アルキルエーテル化でん粉は、親水性で、中性エーテルであるため、構造的に安定で、特にヒドロキシエチルでん粉(以下「HES」という。)及びヒドロキシプロピルでん粉(以下「HPS」という。)が工業、食品業界に広い市場を持っている¹⁾。

関税率表において、アルキルエーテル化でん粉等のでん粉誘導体は、変性でん粉として第 35.05 項に分類される一方、未変性でん粉は第 11.08 項に分類され、両者の間には大きな税率格差が存在する。

現在、アルキルエーテル化でん粉である HES 及び HPS の分析は税関分析法 No.403 に従って実施しており、ヨウ化水素酸による分解反応で生じたエチレン (HES の場合) またはプロピレン (HPS の場合) をガスクロマトグラフ (以下「GC」という。)を使用して確認している²⁾ (以下「現行法 1」という.)。また HPS の場合は、ヨウ化水素酸のほか、アジピン酸を加えて反応を行い、生成したヨウ化イソプロピルを GC で確認する方法³⁾ (以下「現行法 2」という) も税関分析法 No.403 に規定されている。しかしながら、現行法 1 及び現行法 2 にはそれぞれ以下のような課題がある。

・現行法 1

- ①GC の分離カラムとして DB-WAX カラムが挙げられている点
通常、エチレンやプロピレンといった軽質炭化水素を分離するには、PLOT (多孔質層オープンチューブラ) カラム等を使用する必要があるが⁴⁾、現行法 1 で使用している、液相にポリエチレングリコールを使用したカラムでは、分析対象化

合物と液相の極性がないため、分析対象化合物の分離、定性には不相当と考えられる

- ②エチレン及びプロピレンの抽出溶媒として四塩化炭素を使用している点

四塩化炭素は毒性が極めて強いとされていることから、安全性の観点から別の溶媒に変更することが望ましい。

・現行法 2 : HES を分析対象としていない点

医薬品添加物規格⁵⁾のヒドロキシプロピルスターチの定量法を参考にし、HPS への応用についてのみ検討しており³⁾、HES への応用については検討されていない。

そこで本研究では、これらの課題を解消し、HES 及び HPS のいずれでも適切に分析できる方法を構築することを目的として、関税中央分析所報第 42 号「ヒドロキシプロピルでん粉の分析」³⁾及び第十八改正日本薬局方⁶⁾のヒドロキシエチルセルロースの定量法を参考にした新規検液調製法について検討したので報告する。

また、新たな検液調製法で HES 及び HPS から生成されるヨウ化エチル及びヨウ化イソプロピルを GC で定性するための適切な溶媒、カラム及び分析条件の検討も行ったので併せて報告する。

2. 実 験

2.1 試料及び試薬

2.1.1 試料

ヒドロキシエチルでん粉 2 種 (原料 : とうもろこし及びばれいしょ)

ヒドロキシプロピルでん粉 2 種 (原料 : とうもろこし及びタ

* 財務省関税中央分析所 〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-3-5

ピオカ)

未変性でん粉 1 種 (原料: とうもろこし)

ヒドロキシプロピル化リン酸架橋でん粉 1 種

カルボキシメチルでん粉 1 種

2.1.2 試薬

ヨウ化メチル, ヨウ化エチル, ヨウ化イソプロピル (以上, 東京化成工業), n-ヘプタン, トルエン, o-キシレン, o-ジクロロベンゼン, ヨウ化水素酸, アジピン酸, 無水硫酸ナトリウム (以上, 富士フィルム和光純薬)

2.2 装置及び分析条件

2.2.1 GC

装置: Agilent 7890B

カラム: (1)DB-5ms (2)DB-17ms (3)DB-23

(4)HP-INNOWax (5)DB-WAX

(いずれも 30 m×0.25 mm i.d. 膜厚 0.25 µm)

注入量: 1 µL

注入口温度: 200 °C

スプリット比: 50:1

キャリアガス: He

カラム流量: (a)1.4 mL/min (b)1.5 mL/min

オープン温度: (a)40 °C (2 min) →10 °C/min→100 °C (0 min)

→25 °C/min→200 °C (1 min)

(b)40 °C (8 min) →5 °C/min→60 °C (0 min) →25 °C/min→210 °C

(1 min) (カラム(3)のみポストラン 40 °C (5 min) を設定)

検出器: FID

検出器温度: 200 °C

2.2.2 加熱器

装置: アルミブロック恒温槽 ドライサーモユニット DTU-IC (タイテック社製)

加熱温度: 165 °C

反応容器: ミニバキュームチューブ RT-8 (Reliance 社製) (現行法 1 で使用しているもの)

2.3 実験方法

2.3.1 溶媒及びカラムの選択

2.3.1(1) 標準試薬を用いた検討

新規検液調製法では, 溶媒をヨウ化水素酸とともに 165 °C で加熱した後, 上層として溶媒を回収することから, 溶媒の候補としては, 沸点が 3 種類のヨウ化アルキル (ヨウ化メチル, ヨウ化エチル及びヨウ化イソプロピル) より高く, ヨウ化水素酸 (1.7 g/mL) より密度が十分小さい n-ヘプタン, トルエン, o-キシレン及び o-ジクロロベンゼンを選択した. この各溶媒を使用して, ヨウ化アルキル 3 種をそれぞれ 300 ppm の濃度で含有する溶液を調製し, その各溶液を 2.2.1 の条件を用いて, GC で測定した. カラムについては(1)~(4)のカラム, カラム流量及びオープン温度については(a)の条件をそれぞれ用いた.

2.3.1(2) 未変性でん粉検液を用いた検討

2.3.1(1)の検討で適当だと判断した溶媒を使用し, 未変性でん粉検液を調製し, この未変性でん粉検液をヨウ化アルキル 3 種の

溶液とともに, 2.2.1 の条件を用いて, GC で測定した. カラムについては(1)及び(3)~(5)のカラム, カラム流量及びオープン温度については(b)の条件をそれぞれ用いた. 未変性でん粉検液の調製は以下のとおり行った. まず未変性でん粉約 60 mg を耐圧容器である反応容器に量り取った後, アジピン酸 80 mg, 溶媒 1 mL 及びヨウ化水素酸 2 mL を加えて密栓した. この反応容器を 2.2.2 の条件で 10 分おきに攪拌しながら, 60 分間加熱した. 室温まで冷却した後, 上層を取り出し, 無水硫酸ナトリウムで脱水したものを試料検液とした.

2.3.2 各種アルキルエーテル化でん粉等の測定

2.3.1 の検討をもとに決定した溶媒及びカラムの各組合せを用いて, 2.3.1(2)の手順で HES 2 種, HPS 2 種, ヒドロキシプロピル化リン酸架橋でん粉 1 種及びカルボキシメチルでん粉 1 種の検液をそれぞれ調製し, 2.3.1(2)と同様の分析条件を用いて, GC で測定した.

3. 結果及び考察

3.1 溶媒及びカラムの選択

3.1.1 標準試薬を用いた検討

2.3.1(1)の測定結果について, ヨウ化アルキルの 3 本のピークのいずれかと溶媒ピークが重複する場合は×, 近接している場合は△, 溶媒ピークがヨウ化アルキルのピークに何ら影響を与えない場合は○と評価した. ここでいう「近接している場合」とは「溶媒ピークのテーリングの範囲内にヨウ化アルキルのピークが検出される場合やヨウ化アルキルのピークエンドから 0.2 分以内に溶媒ピークが検出される場合」を指している. このカラム及び溶媒の各組合せについての評価を Table 1 に示す. o-ジクロロベンゼンについては, いずれのカラムを用いても溶媒ピークとヨウ化アルキルのピークを十分に分離できた. o-キシレンについては, HP-INNOWax の場合には溶媒ピークがヨウ化アルキルのピークと完全に重複してしまい, DB-23 の場合には, 溶媒ピークとヨウ化イソプロピルのピークの分離が不十分(Fig. 1)であった. n-ヘプタン及びトルエンについては, いずれのカラムを用いても溶媒ピークとヨウ化アルキルのピークを十分に分離できなかった. 次に各カラムを用いた場合の各ヨウ化アルキルのピークの保持時間及び理論段数を Table 2 に示す. 理論段数については, DB-17ms のみヨウ化エチル及びヨウ化イソプロピルの理論段数が他のカラムと比べて小さかった. 加えて DB-17ms はヨウ化アルキルの保持が最も弱かった.

以上から, カラムに DB-5ms, DB-23 又は HP-INNOWax を用いて, 溶媒に o-キシレン (DB-5ms のみ) 又は o-ジクロロベンゼンを使用するのが適当であると判断した.

Table 1 Evaluation of 2.3.1(1) results

	n-Heptane	Toluene	o-xylene	o-DCB
DB-5ms	×	△	○	○
DB-17ms	×	×	○	○
DB-23	×	×	△	○
HP-INNOWax	△	×	×	○

o-DCB: Ortho dichlorobenzene

○: peaks separated

△: peaks were close but not overlapped

×: peaks overlapped

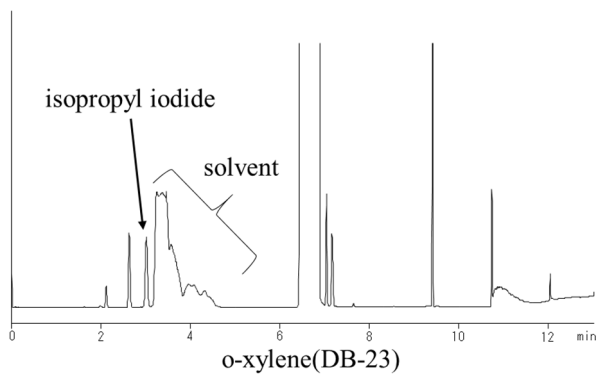


Fig.1 Chromatograms of alkyl iodide

Table 2 Retention times and theoretical plates of alkyl iodide

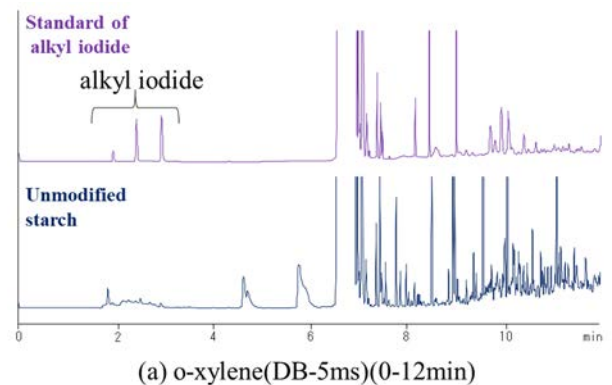
		DB-5ms	DB-17ms	DB-23	HP-INNOWax
Methyl iodide	Retention time(min)	2.048	1.891	2.108	2.363
	Theoretical plate	12057	11284	13252	19431
Ethyl iodide	Retention time(min)	2.576	2.410	2.620	2.901
	Theoretical plate	18235	13079	17972	29731
Isopropyl iodide	Retention time(min)	3.136	2.849	3.002	3.154
	Theoretical plate	27025	10676	15475	33106

3.1.2 未変性でん粉検液を用いた検討

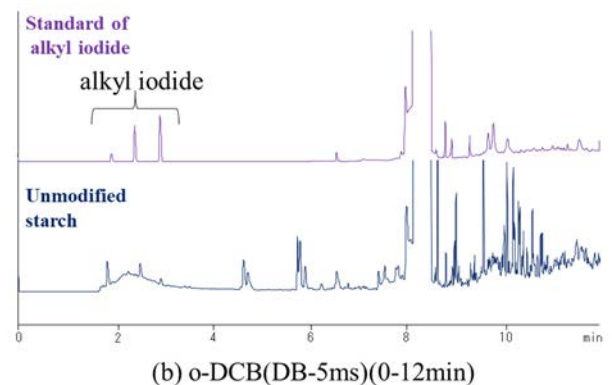
2.3.1(2)では, 3.1.1 で不適当と判断した DB-17ms に代えて, HP-INNOWax と同様液相にポリエチレングリコールを使用した DB-WAX についても検討を行った. DB-5ms では, いずれの溶媒であっても, 未変性でん粉由来のブロードなピークがヨウ化アルキルのピークと重複するため(Fig. 2(a),(b)), 本分析には不適当だと判断した. 溶媒に α -ジクロロベンゼン, カラムに DB-23, HP-INNOWax 又は DB-WAX を用いた場合にピークが重複せず, HES 及び HPS の定性分析が可能だと考えられる.

3.2 各種アルキルエーテル化でん粉等の測定

3.1 の結果から, 溶媒に α -ジクロロベンゼンを用い, カラムに DB-23, HP-INNOWax 又は DB-WAX を用いて 2.2.1 の分析条件(カラム流量及びオープン温度は(b)の条件)で測定を行った. 各試料の測定結果をカラムごとに Fig. 3~5 に示した. いずれのカラムでも HES 2 種及び HPS 2 種を定性分析することができた. またヒドロキシプロピル化リン酸架橋でん粉からもヨウ化イソプロピルが検出でき, 定性が可能であった. 一方で, HES 及び HPS と同じエーテル化でん粉の 1 種であるカルボキシメチルでん粉からはヨウ化エチル及びヨウ化イソプロピルは検出されなかった.



(a) o-xylene(DB-5ms)(0-12min)



(b) o-DCB(DB-5ms)(0-12min)

Fig.2 Chromatograms of unmodified starch and alkyl iodide

4. 要 約

本研究では, HES 及び HPS を適切に分析できる方法の構築を目的として, 新たな検液調製法及び GC での分析条件を検討した. 検討の結果, 反応容器に耐圧容器, 溶媒に α -ジクロロベンゼンをそれぞれ用いて検液を調製し, カラムに DB-23, HP-INNOWax 又は DB-WAX を用いて GC で測定を行うことで, HES 及び HPS の定性分析が可能であることが明らかになった. また今回検討した方法では, ヒドロキシプロピル化リン酸架橋でん粉についても定性分析が可能であった.

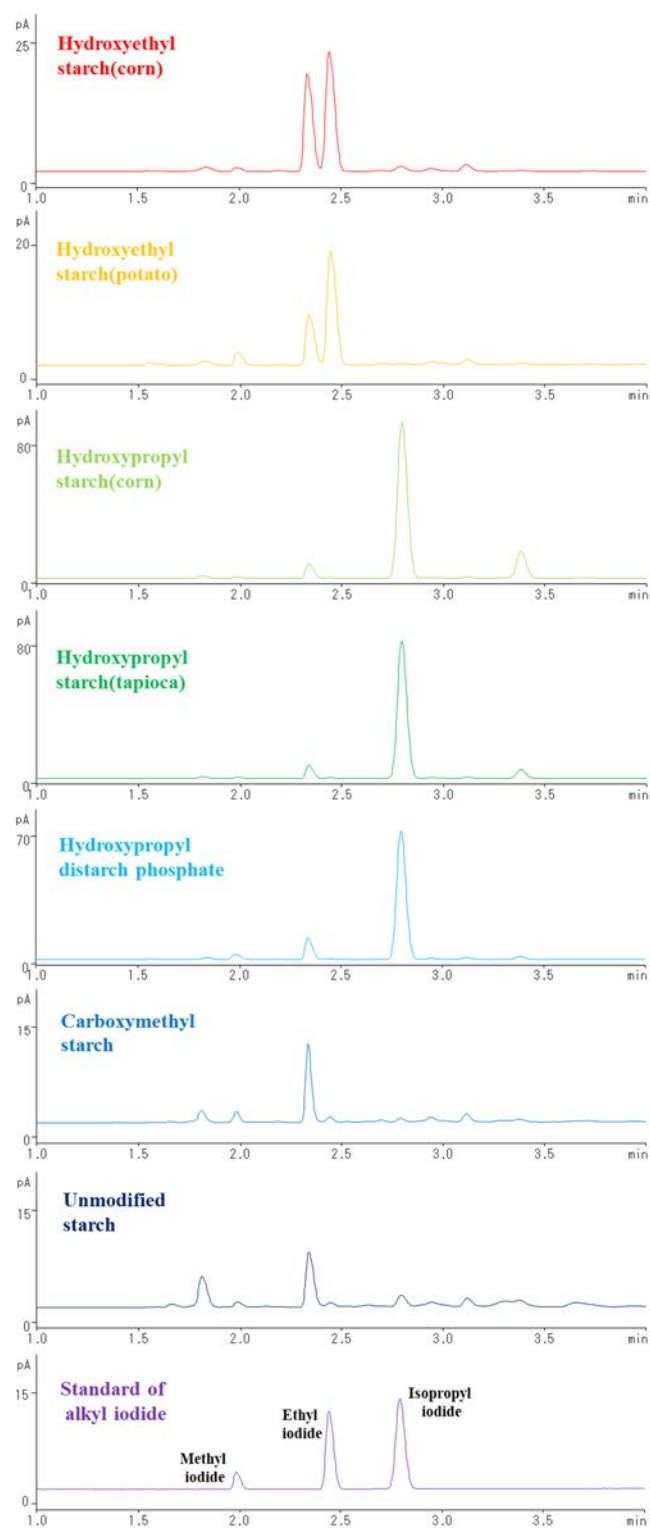


Fig.3 Chromatograms of starches (column: DB-23) (1-4min)

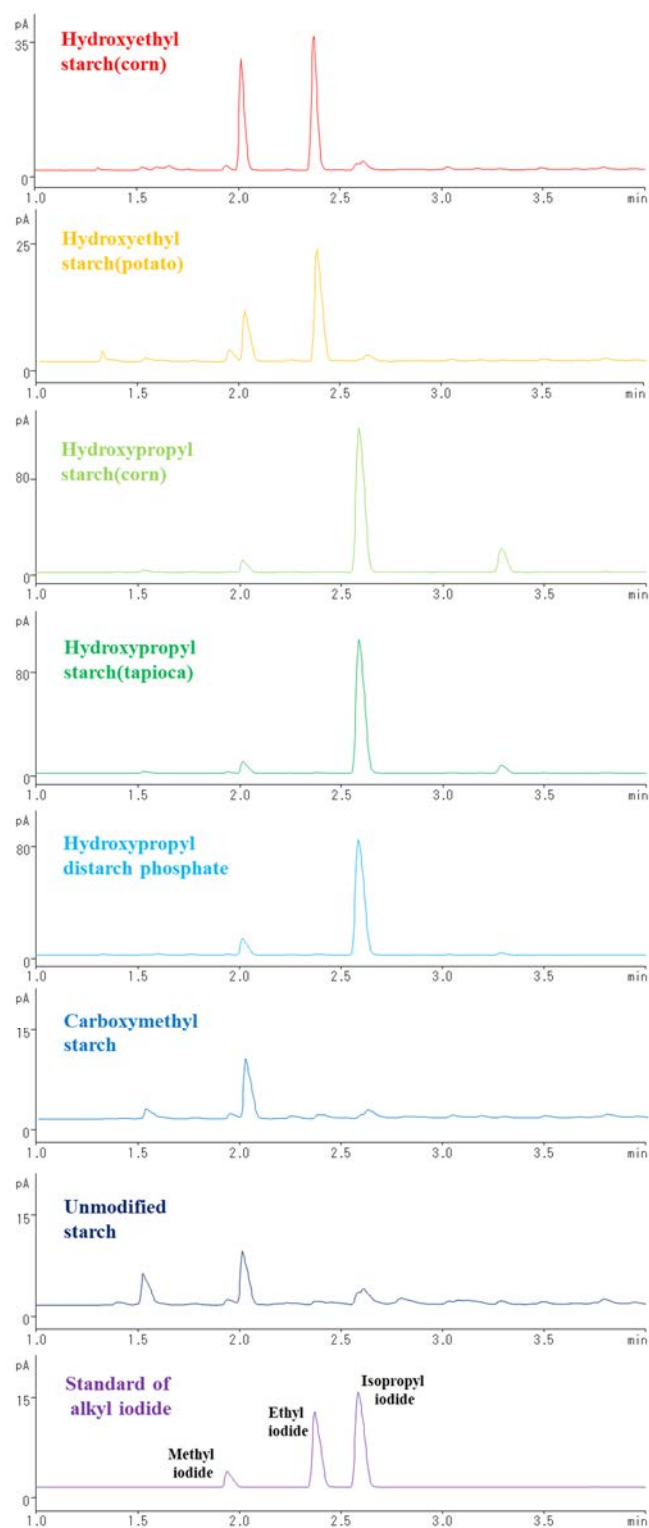


Fig.4 Chromatograms of starches (column: HP-INNOWax) (1-4min)

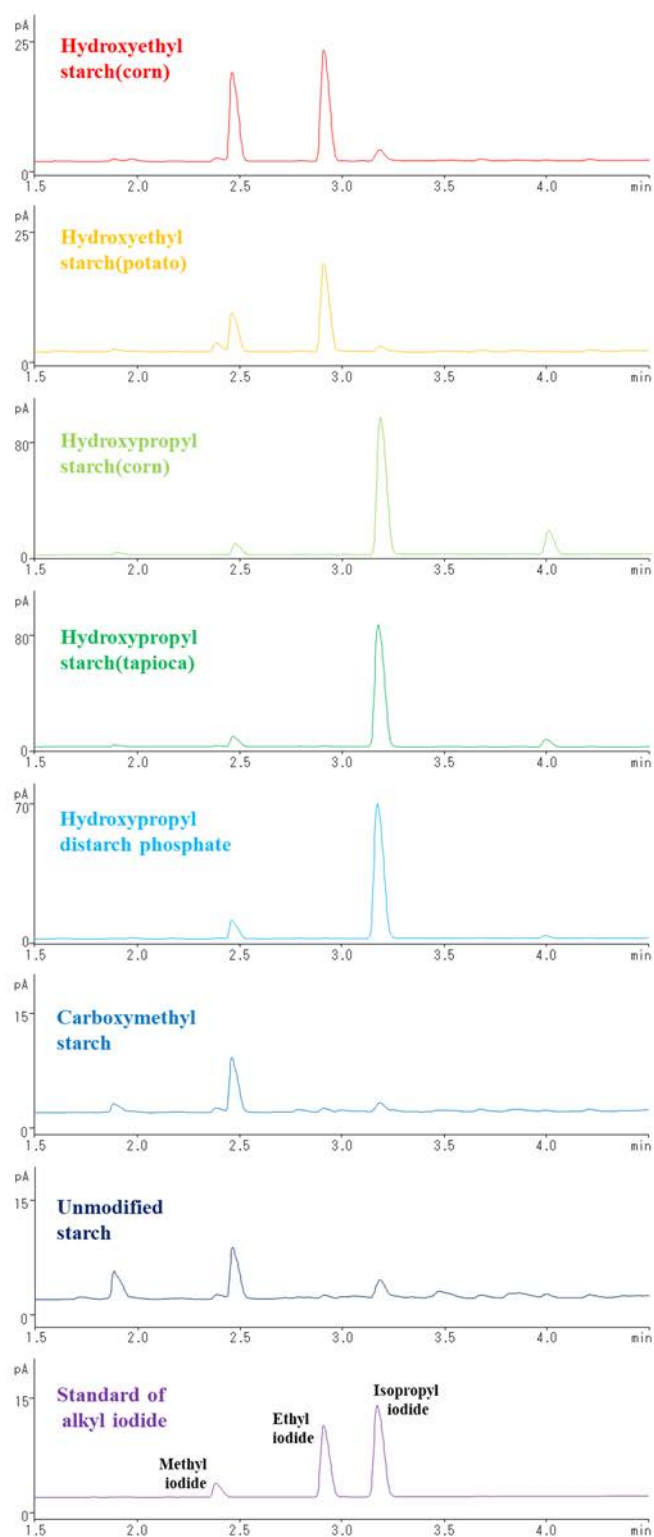


Fig.5 Chromatograms of starches (column: DB-WAX) (1.5-4.5min)

文 献

- 1) 不破 英次, 小巻 利章, 檜作 進, 貝沼 圭二: “澱粉科学の事典”, P.400(2003), (朝倉書店)
- 2) 川端 省三, 井上 昭朗: 関税中央分析所報, **22**, 55 (1981)
- 3) 丸山 幸美, 水田 完, 辻井 淳, 村上 孝之, 山崎 光廣, 印出 進: 関税中央分析所報, **42**, 53 (2002)

- 4) Agilent. “アプリケーションノート Agilent J&W PLOT GC カラムと選択性チューニングによる揮発性有機炭化水素の分離”. Agilent.
https://www.chem-agilent.com/appnote/pdf/low_5994-3485JAJp.pdf (参照2022-06-29)
- 5) 医薬品添加物規格, 008205, 503 (1998)
- 6) 第十八改正日本薬局方, 9004-62-0, 1386(2021)