

難消化性デキストリンの分析について

中嶋 美保*, 石川 友洋*, 中山 清貴*

Analysis of indigestible dextrins

NAKAJIMA Miho*, ISHIKAWA Tomohiro* and NAKAYAMA Kiyotaka*

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

In the Customs Tariff Schedules of JAPAN, dextrin is classified under Subheading 3505.10 (WTO rate: 21.3% or 25.50yen/kg, whichever is the greater). On the other hand, indigestible dextrin is classified under Subheading 3913.90 (WTO rate: 3.4%). Even though dextrin and indigestible dextrin are classified differently and there is a large difference in their tax rates, analysis methods to distinguish them have not been developed. In this study, we focused on the structural difference, and selected two analysis methods: (1) quantitative determination of reducing sugar obtained by enzymatic hydrolysis, and (2) the Nuclear Magnetic Resonance (NMR) analysis method. The quantitative analysis results of reducing sugars obtained by enzymatic hydrolysis showed a clear difference between dextrin and indigestible dextrin. In addition, comparison of NMR spectra showed characteristic signals in the indigestible dextrin. Based on these results, it is possible to distinguish all samples measured in this study.

1. 緒 言

2. 実 験

デキストリンは、でん粉を酸又は酵素により加水分解することによって得られ、変性させたでん粉として関税率表第3505.10号（協定税率21.3%又は25.50円/kgのうちいずれか高い税率）に分類される。一方、難消化性デキストリンは、でん粉を原料とし、微量の酸を加えて加熱することで、人の消化酵素で分解されにくい構造に一部変性させたのち、酵素で加水分解し、分解されなかった部分を回収して精製することにより得られ、変性させた天然の重合体として同表第3913.90号（協定税率3.4%）に分類される。このように分類が異なり、税率格差も大きい、これらを分析により区別する方法は体系化されていない。

本研究では、デキストリンと難消化性デキストリンについてそれぞれの構造の違いに着目し、分析方法を検討した。デキストリンは、グルコースが α -1, 4結合及び α -1, 6結合で構成されているのに対し、難消化性デキストリンは、 α 結合に加え、 β -1, 3結合及び β -1, 2結合等が形成され分岐構造が発達していると考えられている²⁾⁴⁾。

そこで、構造の違いの程度を確認するため、デキストリンと難消化性デキストリンについて、酵素による α 結合の加水分解操作で得られた還元糖分の定量と、核磁気共鳴分光（以下、NMRと略記する。）法によるスペクトルの比較を行い、分析して区別する方法の検討をしたので報告する。

2.1 試料及び試薬

2.1.1 試料

デキストリン 3種（富士フイルム和光純薬社製，Difco Laboratories 社製，東京化成工業社製）
難消化性デキストリン 6種（市販品）

2.1.2 試薬

酵素 : 1. α -アミラーゼ (*Bacillus amyloliquefaciens* 由来，東京化成工業社製)
2. α -アミラーゼ (*Bacillus globigii* 由来，sigma-aldrich 社製)
3. グルコアミラーゼ : (*Rhizopus* sp. 由来，富士フイルム和光純薬社製)
緩衝液 : 0.25 M リン酸緩衝液 (pH6.8)
0.20 M 酢酸緩衝液 (pH4.8)
重溶媒 : 重水

2.2 装置及び測定条件

2.2.1 加水分解条件

酵素 1 : pH6.8 (リン酸緩衝液)，37℃，2時間
酵素 2 : pH6.8 (リン酸緩衝液)，20℃，2時間
酵素 3 : pH4.8 (酢酸緩衝液)，40℃，2時間

2.2.2 NMRによる測定条件

装置 : 核磁気共鳴装置 JNM-ECZ500R (日本電子社製)
測定核種 : ^{13}C
積算回数 : 4096 回

2.3 実験方法

2.3.1 還元糖分の定量

税関分析法等⁵⁾⁻⁸⁾に準じて、以下の実験を行った。

2.3.1 (1) 試料の調製

フラスコに、試料 5 g を採取し、緩衝液に均一化した酵素溶液を加え、緩衝液を追加し約 200 mL とした。また、対照試料として、フラスコに、試料 5 g を採取し、緩衝液約 200 mL を加えたものを用意した。デキストリンのうち、室温で溶解しないものについては、60 °C の水浴上で加温し、溶解後室温まで放冷した。

2.3.1 (2) 加水分解操作

2.3.1 (1) で調製した試料を、振とう恒温槽中で 2.2.1 の条件で加水分解操作を行い、室温まで放冷したのち、水で 250 mL に定容したものを検液とした。

2.3.1 (3) 還元糖分の滴定

レイン・エイノン法による 2.3.1 (2) の検液中の還元糖分の滴定を行った。なお、必要な場合においては、滴定量がレイン・エイノン糖量表（ぶどう糖）の範囲となるよう検液を希釈した。

2.3.2 NMR 法による測定

試料約 200 mg を重水 1 mL に溶解し、5 mm の NMR 用試料管に入れて 2.2.2 の条件で測定を行った。

3. 結果及び考察

3.1 還元糖分の定量

加水分解試料及びブランク試料の還元糖分を算出した結果を Table 1 に示す。検液は 250 mL であるため、還元糖分は以下の計算式を用いて求めた。

$$\text{還元糖分(\%)} = \frac{\text{レイン・エイノン糖量表により求めた} \times \text{希釈倍率}}{\text{検液 100 mL 中のぶどう糖量}} \times 100$$

$$4 \times (100 - \text{水分}) \times \text{重量}$$

酵素 1 又は 2 を用いた加水分解では、 α -アミラーゼにより α -1, 4 結合のみが加水分解され、酵素 3 を用いた加水分解では、グルコアミラーゼにより α -1, 4 結合に加え α -1, 6 結合も加水分解される⁹⁾。¹⁰⁾ 還元糖分の定量結果は、デキストリンは加水分解試料とブランク試料の還元糖分の差が大きく、難消化性デキストリンはそれぞれ微増するという結果となり、両者に明確な差が見られた。

デキストリンと難消化性デキストリンの還元糖分の差は、デキストリンと難消化性デキストリンの構造の違いによるものと考えられる。難消化性デキストリンの構造は α 結合に加え、 β -1, 3 結合及び β -1, 2 結合を有し、 α -1, 6 結合もデキストリンに比べ増加していることから、さまざまな結合様式がランダムに存在する構造が酵素による加水分解抵抗性を高めているため¹¹⁾、分解の程度は小さかったといえる。

今回検討した試料では、酵素 3 を用いた場合にデキストリンと難消化性デキストリンの還元糖分の差が最も大きいため、区別しやすいといえる。この場合において、加水分解試料とブランク試料の還元糖分の差は、デキストリンにおいては最小で 56.5 %、難消化性デキストリンにおいては最大で 12.4 % であることから、差が概ね 50 % 以上については、デキストリンと判断できると考えられる。

Table1 Comparison of reducing sugar(%) of hydrolysis sample and blank sample

Sample	Enzyme1(α -amylase)		
	Reducing sugar(%)		
	Hydrolysis sample	Blank sample	Difference
Dextrin1	22.4	6.0	16.4
Dextrin2	31.5	5.9	25.6
Dextrin3	29.3	11.6	17.7
Indigestible dextrin1	6.5	6.5	0.0
Indigestible dextrin2	6.1	6.1	0.0
Indigestible dextrin3	14.4	14.0	0.4
Indigestible dextrin4	13.3	13.0	0.3
Indigestible dextrin5	6.4	6.2	0.2
Indigestible dextrin6	15.9	15.4	0.5

Sample	Enzyme2(α -amylase)		
	Reducing sugar(%)		
	Hydrolysis sample	Blank sample	Difference
Dextrin1	53.7	5.7	48.0
Dextrin2	36.2	6.0	30.2
Dextrin3	50.6	11.5	39.1
Indigestible dextrin1	8.8	6.6	2.2
Indigestible dextrin2	8.5	6.1	2.4
Indigestible dextrin3	15.4	14.1	1.3
Indigestible dextrin4	14.5	12.8	1.7
Indigestible dextrin5	7.6	6.2	1.4
Indigestible dextrin6	16.5	15.4	1.1

Sample	Enzyme3(glucosylase)		
	Reducing sugar(%)		
	Hydrolysis sample	Blank sample	Difference
Dextrin1	62.3	5.8	56.5
Dextrin2	77.0	5.7	71.3
Dextrin3	105.6*	11.4	94.2
Indigestible dextrin1	18.6	6.2	12.4
Indigestible dextrin2	16.8	5.7	11.1
Indigestible dextrin3	17.4	14.2	3.2
Indigestible dextrin4	15.6	12.9	2.7
Indigestible dextrin5	18.5	6.1	12.4
Indigestible dextrin6	17.8	15.8	2.0

* The coefficient F can be used when determining the amount of dextrin from the glucose formed. F is calculated with the following formula¹²⁾.

Content of dextrose

= (Content of dextrose converted by Lane – Eynon Table) \times F

$$F = \frac{180n - 18(n - 1)}{180n}$$

n is the average degree of polymerization.

3.2 NMR 法によるスペクトルの比較

デキストリン及び難消化性デキストリン各1試料の ^{13}C -NMR スペクトルの全体図を Fig. 1 に、97 ppm から 105 ppm の範囲の拡大図を Fig. 2 に示す。各試料のスペクトルを比較すると、難消化性デキストリンは α -1, 6 結合由来、 β -1, 3 結合由来及び β -1, 2 結合由来のシグナルが特徴的に見られた¹³⁾⁻¹⁵⁾。このことから、難消化性デキストリンは、 α -1, 6 結合、 β -1, 3 結合及び β -1, 2 結合をもつことにより、デキストリンと比較し、分岐構造がより発達しているといえる。

今回検討した試料では、難消化性デキストリンには特徴的なスペクトルのパターンが見られ、これはデキストリンには見られない特徴であることから、難消化性デキストリンと判断するうえでの指標に成り得ると考えられる。

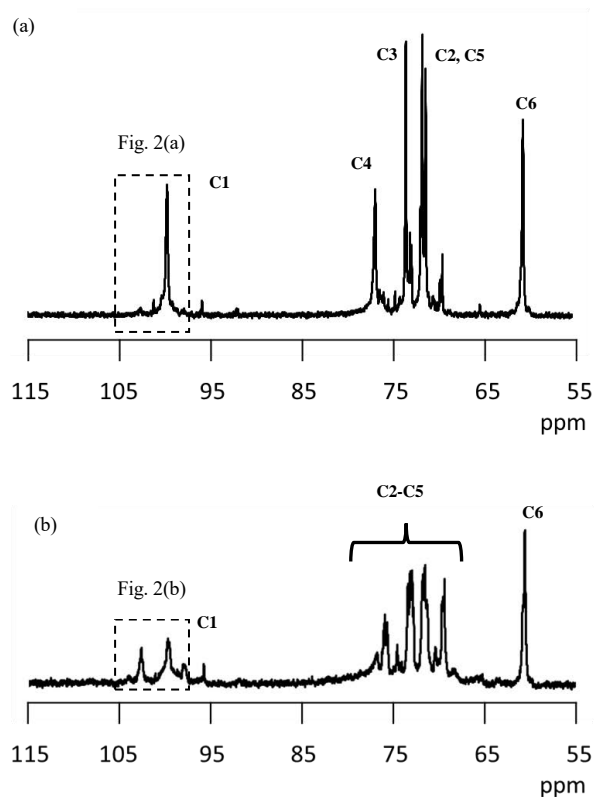


Fig.1 NMR spectra of (a) Dextrin1 and (b) Indigestible dextrin2

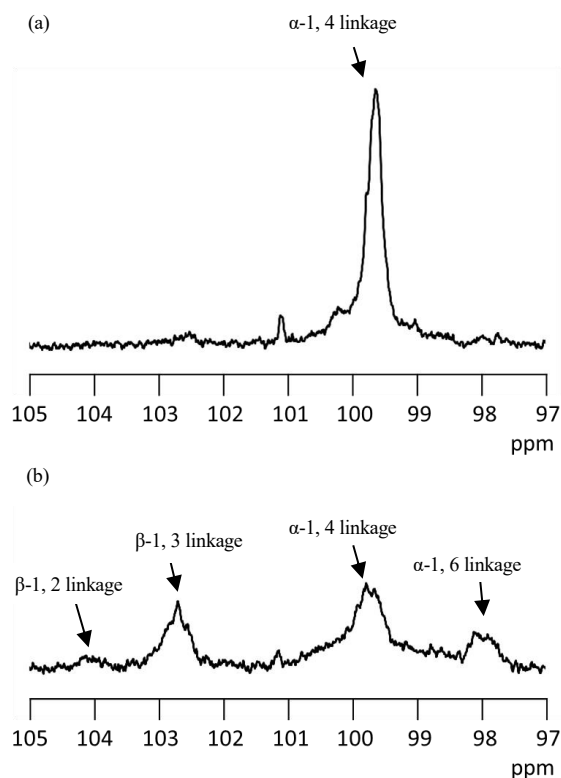


Fig.2 NMR spectra of (a) Dextrin1 and (b) Indigestible dextrin2 (expansion)

4. 要 約

本研究では、デキストリンと難消化性デキストリンの構造の違いに着目し、酵素による加水分解操作で得られた還元糖分の定量値及びNMR法による ^{13}C -NMRスペクトルの比較を行った。

酵素による加水分解後の還元糖分の定量値は、デキストリンと難消化性デキストリンを比較すると明確な差が見られた。酵素による加水分解の程度に違いはあるが、両者を比較すると差が顕著であることから、デキストリンと難消化性デキストリンを区別することが可能であると考えられる。

また、試料のNMRスペクトルを比較すると、難消化性デキストリンには、97 ppm から 105 ppm の範囲に特徴的なシグナルが観測され、今回測定した試料ではデキストリンとの区別が可能であった。

このことから、デキストリンと難消化性デキストリンを区別する分析として、これらの分析方法が有用であることが確認できた。

文 献

- 1) 独立行政法人農畜産業振興機構ホームページ「多糖類としての難消化性デキストリンの特徴」
(https://www.alic.go.jp/joho-s/joho07_001658.html)
- 2) 独立行政法人農畜産業振興機構ホームページ「難消化性デキストリンの特性と用途」
(https://www.alic.go.jp/joho-d/joho08_000547.html)
- 3) K. Okuma, I. Matsuda : *Journal of Applied Glycoscience*, **50**, 389-394 (2003).
- 4) K. Okuma, I. Matsuda, Y. Katsura, Y. Kishimoto, K. Tsuji : *Journal of Applied Glycoscience*, **53**, 65-69 (2006).
- 5) 関税中央分析所ホームページ「109 デキストリン中の還元糖分の定量分析法」
(https://www.customs.go.jp/ccl_search/analysis_search/a_109_j.pdf)
- 6) 関税中央分析所ホームページ「110 でん粉のアルファー化度の測定法」
(https://www.customs.go.jp/ccl_search/analysis_search/a_110_j.pdf)
- 7) 関税中央分析所ホームページ「114 砂糖とデキストリンからなる砂糖調製品の還元糖分の定量分析法」
(https://www.customs.go.jp/ccl_search/analysis_search/a_114_j.pdf)
- 8) 池田英貴, 郡司正之, 高山義紀, 富田健次 : 関税中央分析所報, **42**, 41 (2002).
- 9) 二國二郎 : “澱粉科学ハンドブック”, P.91 (1977), (朝倉書店)
- 10) 鈴木繁男, 中村道徳 : “澱粉科学実験法”, P.112 (1979), (朝倉書店)
- 11) 独立行政法人農畜産業振興機構ホームページ「新規水溶性食物繊維素材「難消化性グルカン」の特性と用途」
(https://www.alic.go.jp/joho-s/joho07_001478.html)
- 12) 山崎幸彦, 丸山清吾, 桜井輝孝 : 関税中央分析所報, **33**, 23 (1994).
- 13) H. N. Cheng, T. G. Neiss : *Polymer Reviews*, **52**, 81-114 (2012).
- 14) A. Laurentin : 「Starch pyrodextrins: In vitro fermentation and physiological effects」 (2004).
- 15) N. Hamaguchi, H. Hirai, K. Aizawa, M. Takada : *Journal of Applied Glycoscience*, **62**, 7-13 (2015).