

フローインジェクション分析法による米中アミロースの迅速定量

中 島 秀 治・高 橋 健太朗*

(東北農業試験場・*岩手県経済連土壌診断センター)

Rapid Determination of Amylose in Rice by Flow Injection Analysis

Hideharu NAKAJIMA and Kentarou TAKAHASHI*

(Tohoku National Agricultural Experiment Station・*Iwate Prefectural Economic Federation-Agricultural Co-Operatives)

1 は じ め に

農業改良普及所や農業協同組合などの実験室において、米中アミロースの迅速で簡便な定量法の確立が要請されている。著者は水酸化ナトリウム抽出・ヨウ素呈色反応によるフローインジェクション分析法により米中のアミロースを定量¹⁾する方法を確立し、それによって全国の農家自家用飯米の玄米試料の分析を行ったので、その結果を報告する。

2 試 験 方 法

(1) 試料 全国7地域、13品種、359点の玄米試料。

(2) 装置 Tecator 製サイクロテック微粉碎装置 (0.5 mmメッシュ), Mettler AE 260型電子天秤, Tecator FI A5010型分析装置一式及び市販熱板。

(3) 試薬液の調整

1) 水酸化ナトリウム抽出液 500ml ビーカーに特級水酸化ナトリウム (NaOH) 20 g を採り、水を加えて溶解しメスシリンダーで500mlとした。

2) 水酸化ナトリウム液 (C) 1 l ビーカーに特級水酸化ナトリウム 4 g を採り、水を加えて溶解し、一級エチルアルコール (C_2H_5OH) 25ml を添加したのち、水を加えメスシリンダーで1 l とした。

3) クエン酸・酢酸ナトリウム液 (R_1) 1 l ビーカーに特級クエン酸 ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) 21 g 及び酢酸ナトリウム ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$) 14 g を採り、水を加えて溶解したのち、メスシリンダーで1 l とした。

4) ヨウ素液 (R_2) メスシリンダーでクエン酸・酢酸ナトリウム液100ml及び市販の特級ヨウ素準液 (1%) 4 ml を1 l ビーカー採り水を加えて、攪拌後メスシリンダーで1 l として、アルミ箔を巻き付けた褐色ビンに移し、冷暗所に保存した。使用時には、水浴中でゆるやかに加温し、室温 (20~25°C) まで液温を上昇させて用いた。

5) アミロース標準試料 日本ゼネラル科学機器部が、日本穀物検定協会中央研究所に依頼分析した白米粉試料を譲り受けて標準試料として用いた (低, 中, 高含有量試料)。

6) その他の試薬 一級エチルアルコール (C_2H_5OH) は原液 (99%程度) を、水は純水を用いた。

(4) 試料液の調製 予め重量を求めた試験管に粉碎調製した試料及び標準試料20.0mg (0.0200 g) をアルミ箔小片

で成形した秤量ボートを用いて正確に採り、エチルアルコール0.5mlをマイクロピペット等で添加攪拌したのち、水酸化ナトリウム抽出液2mlを分注器等で添加した。試験管立てに組立てて、市販の水深30~40mmホットプレートに水を張り80~90°Cとした水浴中に入れ、45~60分間加温した。次に試験管の外側の水滴を拭き取り、分注器等で水約17mlを添加し、電子天坪で試料液量を計量した。その後、試験管に栓をし振り混ぜ、固形物等は細いガラス棒等を用いて良く砕いた。静置後上澄液を試料液として用いた。

(5) 定量 使用したFIA流路系は図1に示した。試料液採取量及び計器類の調整は、Tecator FIA 装置の取り扱い説明書に従った。

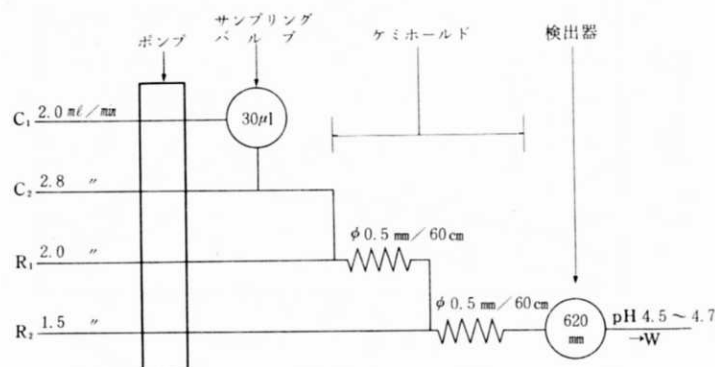


図1 フローインジェクション分析流路系

注. C_1 : 試料液, C_2 : キャリヤー液, R_1 : 緩衝液, R_2 : ヨウ素液

3 試 験 結 果

(1) 分析条件の検討

1) 検量線¹⁾ アミロース含有量が標定されている白米試料14点を用い、アミロースの電気的吸光度 (分光光度計の出力値が mV 表示) を求め、図2に示した。アミロースの含有量範囲は、18~24%で、波長620nmにおける電気的吸光度は、216~326 (mV) であった。アミロース含有量と電気的吸光度の相関は $r=0.996^{**}$ であった。また検量線のY軸切片の電気的吸光度は、90mVであり、これはアミロペクチンの影響によると考えられる。

2) 玄米と白米 玄米試料の精米操作を省いた場合の分析値の変化を求めるため、玄米と搗精歩合90~95%精米中アミロース定量値の相関を求めた。点数16点の測定結果は玄米(X)16~20%, 白米(Y)17~20% (乾物) で、相関

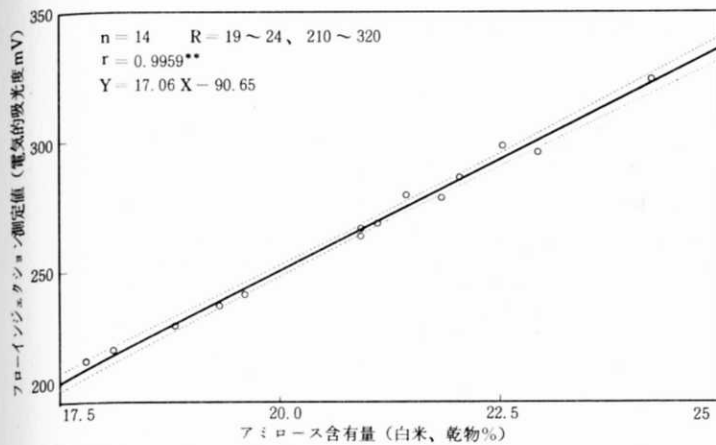


図2 検量線

係数 $r=0.88^{**}$, $Y=1.08X+0.44$ の関係式が得られた。白米が高い値を示した。

3) 分析精度 結果は表1に示したが、6品種12点ではCV0.5~3%, 標準偏差0.1~0.5%であった。回分法²⁾と本法の相関を求めると、範囲13~20%で、 $r=0.99^{**}$ の高い相関関係が認められた。回分法で分析値がやや高い傾向が認められた。また、分析日を変えて行った2回の測定値はほぼ一致し、本分析法の再現性は高かった。品種内におけるアミロース含有量の差は、標準偏差より大きい。また、試料採取量を増量するため、三角フラスコを用い試料採取量を100mgとし、エチルアルコール2.5ml、水酸化ナトリウム液10ml、最終液量100gとしても分析精度に差は認められない。

表1 分析精度

品 種	No.	FIA (1回目)			回分法 ²⁾	FIA (2回目)
		$\bar{x}^*1$	Sx	CV		
ともゆたか	1	19.7	0.3	1.5	19.5	20.0
	2	16.4	0.4	2.4	17.0	16.4
あきたこまち	1	17.7	0.3	1.7	17.5	17.7
	2	16.3	0.5	3.1	16.5	15.2
ササニシキ	1	18.8	0.1	0.5	19.0	18.0
	2	15.7	0.2	1.3	16.2	15.4
コシヒカリ	1	17.4	0.3	1.7	17.4	17.8
	2	13.3	0.3	2.3	13.5	13.8
日 本 晴	1	17.5	0.2	1.1	17.7	17.9
	2	14.2	0.4	2.8	15.0	13.6
ヒノヒカリ	1	18.2	0.1	0.5	18.3	18.2
	2	15.9	0.3	1.9	16.2	15.1

注. *1, n=5 *2 n=2 (試料調製からの繰り返し)

$$\bar{x} = \sum x / n$$

$$Sx = \sqrt{(\sum x^2 - n\bar{x}^2) / (n-1)}$$

$$CV = Sx / \bar{x} \times 100$$

採取: 平成元年度産

粉碎: Tecator 製サイクロテック微粉碎装置

分析: 平成2年3月

(2) 農家自家用飯米中のアミノース分析

1) 品種とアミロース含有量13品種359点の玄米中アミロース分析結果を表2に示した。

コシヒカリについては、東北地域とその他の地域とを比較すると、東北の16%に対し他では15%と東北地域で約1%程度含有量が高く。日本晴では、近畿地域内で18検体中最低が13.6%, 最高17.9%であり、また平均値でみると、甲信越では15%, 近畿及び九州では16%と関東・甲信越が

表2 各地の品種とアミロース含有量

品 種	地 域	点数 n	範 囲 R	平均 $\bar{x}$	標準偏差 Sx	変動係数 CV
ともゆたか	北 海 道	21	18.2~20.0	19.0	0.74	3.9
あきたこまち	東 北	45	15.2~17.7	16.4	0.64	3.9
ササニシキ	"	81	15.4~18.0	16.6	0.57	3.4
アキヒカリ	"	4	18.4~18.9	18.6	0.22	1.2
たかねみのり	"	32	15.3~18.3	17.3	0.83	4.8
トヨニシキ	"	2	17.1~17.1	17.1		
コシヒカリ	東 北	25	15.1~17.1	16.3	0.72	4.4
	関東・甲信越	28	14.5~16.4	15.6	0.56	3.6
	北 陸	22	13.8~17.0	15.6	0.77	4.9
	近 畿	1		15.0		
	九 州	17	14.9~16.3	15.5	0.48	3.1
(全 体)		93	13.8~17.1	15.8	0.71	4.5
日 本 晴	関東・甲信越	6	14.5~14.7	14.6	0.08	0.52
	近 畿	18	13.6~17.9	16.2	1.23	7.6
	九 州	9	14.7~17.0	16.2	0.84	5.2
(全 体)		33	13.6~17.9	15.9	1.16	7.3
キヌヒカリ	近 畿	1		15.0		
	九 州	4	14.2~14.8	14.6	0.26	1.8
ヤマビコ	近 畿	2	17.0~17.1	17.1	0.07	0.41
あけぼの	中 国	6	16.4~17.0	16.7	0.21	1.3
ヒノヒカリ	九 州	33	15.1~18.2	16.6	0.77	4.6
ミナミヒカリ		2	17.9~17.9	17.9		
全 体		359	13.6~20.0	16.5	1.11	6.7

約1%低い。東北地域内の各品種間アミロース含有量を比較すると、コシヒカリ<あきたこまち<ササニシキ<トヨニシキ<たかねみのり<アキヒカリと順次含有量が増加した。なお、同一種内でのアミロース含有量の差は、検体数が増加すると共に拡大傾向があった。

2) 栽培地域とアミロース含有量: 全国359点の玄米中アミロース含有量は、最低約14%, 最高約20%, 平均16.5±1.1% (乾物) であった。地域別に含有量 (乾物) をみると、関東・甲信越15±0.6% (n=34), 北陸16±0.8% (n=22), 九州16±1.0% (n=65), 近畿16±1.2% (n=22), 中国17±0.2% (n=6), 東北17±0.8% (n=189), 北海道19±0.7% (n=21) であった。

4 ま と め

本法により農業生産現場により近い農業協同組合等の実験室での活用が期待できる十分な分析精度が得られる。回分法と比較して分析操作は、単純迅速となり、検体約100点の試料秤量から定量までの分析所要時間は、約2.5日間 (1日6時間) であり、特別な熟練を必要としない。また、玄米中のアミロース含有量は、品種及び生産地によって変化していた。

引 用 文 献

- 1) 中島秀治. 1990. フローインジェクション分析法による米および小麦粉中のアミロースの迅速定量. 農及園65: 1374~1379.
- 2) 小原哲二郎, 岩尾裕之, 鈴木隆雄. 1969. アミロースとアミロペクチンの分離定量. (食品分析ハンドブック). 建帛社. p. 230.