

SEPARATION REPORT

TSKgel G2500PW_{XL} による食物繊維の定量

——— 目 次 ———

	ページ
1. はじめに	1
2. 食物繊維と特定保健用食品	1
3. 定量法、特にプロスキー法とは	2
4. 酵素-HPLC法の標準メソッド	2
5. 食物繊維の測定にはどのカラムが最適か	2
6. 定量に当たっての注意	5
7. 終わりに	6

1. はじめに

食物繊維は消化酵素では消化されない多糖類の総称です。1976年トrowell (Trowell) による定義では「ヒトの消化酵素の作用を受けない植物細胞の構成成分」とされていましたが、現在は動物性のキチンやキトサンも食物繊維とされています。植物性のものとしては、セルロース、リグニン、マンナン、ペクチン、アルギン酸などが良く知られています。

かつて食物繊維は栄養素としては不要のものとされてきました。ところが1970年以降、その必要性が続々と報告され、大腸癌、糖尿病、高脂質症などに密接に関連していることが明らかになってきました。現在では五大栄養素（蛋白質、脂肪、糖類、ビタミン、ミネラル）に次ぐ第六の栄養素とされています。

表一 栄養表示基準による糖の分類と名称

炭水化物	糖質	糖類	単糖；ブドウ糖、果糖 二糖；蔗糖、麦芽糖、乳糖
			オリゴ糖など；フラクトオリゴ糖、ガラクトオリゴ糖、乳果オリゴ糖、シクロデキストリン 糖アルコール；ソルビトール、マンニトール、キシリトール、エリスリトール 多糖；澱粉
	食物繊維	不溶性；セルロース、リグニン、ヘミセルロース、キチン、キトサン、ペクチン 水溶性；ペクチン、マンナン、寒天、グアガム、アルギン酸、カラゲニン 難消化性デキストリン、ポリデキストロース	

* ペクチンは不溶性と水溶性があります。

2. 食物繊維と特定保健用食品

厚生省は保健の効果が期待されている食品のなかで、一定の許可要件に適合しているものを「特定保健用食品」として認可しています。この制度は1991年9月にスタートしました。認可された食品は効用が表示でき、商品を差別化できることとなります。1997年1月現在

で78商品が許可されており、最も種類が多いのはオリゴ糖などを使用した糖質商品（43商品）で、次いで食物繊維商品（14商品）となっています。消費者の関心やニーズが高いことから、今後食物繊維商品がますます増加することが予想されます。

表二 食物繊維の入った特定保健用食品

食品	関与する食物繊維	許可表示の内容
ソーセージ 粉末飲料 飲料	難消化性デキストリン グアガム分解物 ポリデキストロース サイリウム種皮	お腹の調子を整える
ビスケット かまぼこ 清涼飲料水	キトサン 低分子アルギン酸ナトリウム	コレステロールが高めの方の食生活改善
飲料	難消化性デキストリン	血糖値の気になり始めた方に

3. 定量法、特にプロスキー法とは

食物繊維の測定方法としてはプロスキー（Prosky）法、アスパ（Asp）法、サウスゲート（Southgate）法が知られています。とくにプロスキー法は法令（米国、日本の公定法）でも標準とされ、最も使用されています。

プロスキー法は酵素—重量法ともいわれ食物を脱水分、脱脂など必要に応じて前処理した後、破碎し粉末化し、その粉末を熱安定 α -アミラーゼ、プロテアーゼ、アミノグルコシダーゼで順次酵素消化します。最後にエタノールを加え未消化溶出成分を沈殿させ、その沈殿をろ過し、エタノール、アセトンで洗浄後、乾燥秤量する方法です。

このプロスキー法は信頼性が高い方法ですが、エタノール沈殿しない低分子水溶性の食物繊維は測定できないという問題があります。その解決手段としてHPLC法（高速液体クロマトグラフ法）が提案されるようになりました。

4. 酵素-HPLC法の標準メソッド

以下に測定手順の概略を示しますが、詳細は巻末の文献リスト1)～6)を参考にして下さい。

- 1) プロスキー法で食物繊維を定量する。
- 2) ろ過工程で発生するろ液をイオン交換樹脂に通過して、蛋白質、有機酸類、無機塩類を除去する。
- 3) この液を試料としてHPLCで分析する。得られたクロマト画分を単糖類、2糖類画分とに分け、ピーク面積の比率を求める。
- 4) 内部標準物質としては既知量のグルコース（ブドウ糖）を用いるとよい。グルコースで都合が悪いときはグリセロールなどを添加し標準物質とする。

検出器は一般的には示差屈折計（RI）を使用します。食物繊維量は面積比から求めますので、面積比を自動的に算出できるデータ処理装置があれば便利です。

5. 食物繊維の測定にはどのカラムが最適か

HPLCで糖を分離測定する分離モードはいろいろ報告されています。そのなかで食物繊維を測定するには、以下の理由のためゲルろ過（GFC、SEC）モードが有効です。

- ①プロスキー法で測定困難な低分子水溶性画分を定量できること
- ②食物繊維は3糖類以上の多糖の混合物のため、全体像が見えること

食品としてよく使用される小糖類の分子量と溶出時間の関係を表3)に示します。これら低分子糖類は食物繊維を定量するときに食物繊維と同時に見ることが出来るため、内部標準としても用いることが出来ます。他の小糖類が混入し内部標準として使用するのが難しいときはグリセロールを使用するとよいでしょう。

表-3 よく使用される小糖類のゲルろ過モードでの測定例（分子量と溶出時間の関係）

試料	重合度	分子量	溶出時間
Levoglucosan	1	162.14	41.27
Glycerol	1	92.1	38.46
Erythritol	1	122.12	37.12
D-Xylose	1	150.13	37.07
D-Fructose	1	180.16	36.29
D-Xylitol	1	152.15	36.00
D-Glucose	1	180.16	35.38
D-Sorbitol	1	182.17	35.22
Sucrose	2	342.3	33.98
Maltose	2	360.31	33.67
Maltitol	2	344.32	33.33
Lactose	2	360.31	33.17
Isomaltose	2	342.36	32.92
Lactitol	2	344.32	32.89
Maltoriose	3	504.44	32.27
G4	4	666.6	31.25
G5	5	828.7	30.44
G6	6	990.9	29.82

* 分子の形や物性（疎水性など）の違いにより分子量と溶出時間が逆転している糖もあります。

カラム；TSKgel G 2500PW_{XL} 7.8mmI.D.×30cm×2

TSKguardcolumn PW_{XL} 6.0mmI.D.×4.0cm

溶離液；水

流 速；0.5ml/min

温 度；80℃

検 出；R I

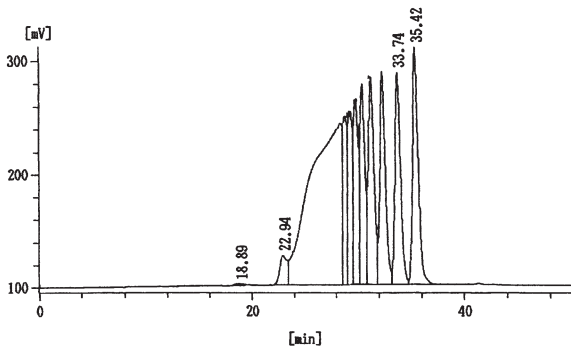


図-1. 標準試料の分離例

* 35.42分のピークは単糖のブドウ糖です。そこから左へ2糖、3糖とピークが並んで分離されています。

カラム；TSKgel G 2500PW_{XL} 7.8mmI.D.×30cm×2
TSKguardcolumn PW_{XL} 6.0mmI.D.×4.0cm

溶離液；水

流速；0.5ml/min

温度；80℃

検出；RI

試料；粉末コーンシラップ

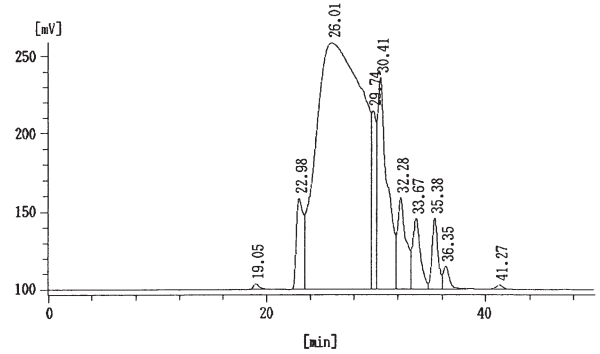


図-2. 製品A（酵素分解前）

* この試料はカロリー源となる消化性の糖類と複数の小糖類を含んでいます。これはその全体像を示しています。

分析条件は図-1と同じ

試料；難消化性デキストリン混入商品

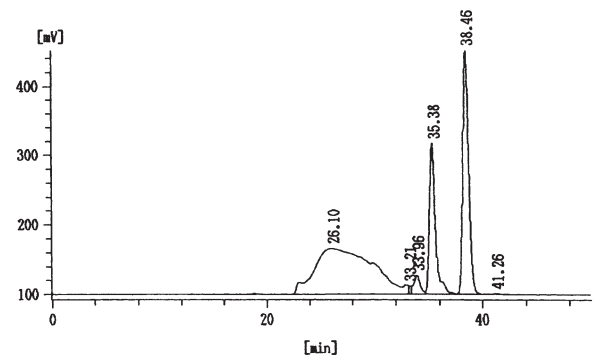
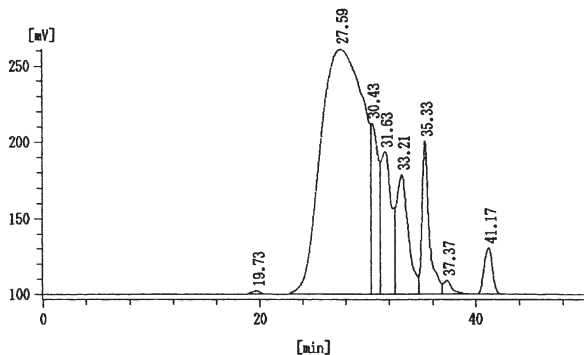


図-3. 製品A（酵素分解後）

* 酵素分解前と比較すると、グルコースのピークが高くなり、高分子領域が全体的に低下しています。これは澱粉などが消化されたためです。面積計算すれば消化された部分は正確に求められます。38.46分の大きなピークは内部標準として添加したグリセロールです。33.96分の部分は2糖類ですが、32分までの部分は食物繊維と言えます。

分析条件は図-1と同じ

試料；難消化性デキストリン混入商品



図－４．製品B（酵素分解前）

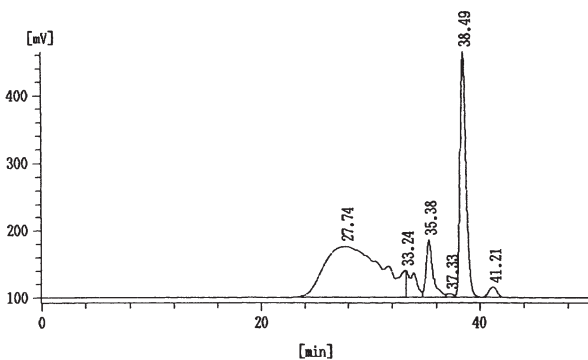
*一番右のピークがレボグルコサン、その他グルコースなど小糖類が確認できます。35.33分のピークがグルコースです。

分析条件は図－１に同じ

試料；ポリデキストロース混入商品

6. 定量に当たっての注意

ゲルろ過モードでは、単糖類の糖アルコールとブドウ糖、2糖類のピークには糖アルコールのほか蔗糖、乳糖などの栄養素が含まれ、分子量が同じ場合は区別できません。（実際は表－3で見られるように、疎水性などの微妙な違いにより分離できることがあります。）低分子食物繊維は3糖類以上ですがこの中には難消化性オリゴ糖も含まれてしまいます。したがって、ゲルろ過モードでは一部が難消化性オリゴ糖と重複する恐れがあるため、食物繊維の定量を正確に行うことができない場合があります。重複の有無は別の分離モード、例えばTSKgel Amide-80を用いた順相モードやTSKgel Sugar AXGなどのイオン交換モードを組み合わせることで確認できます。



図－５．製品B（酵素分解後）

*難消化性デキストリン（図－３）と同じ傾向が見られます。38.49分の大きなピークは内部標準のグリセロールです。

分析条件は図－１に同じ

試料；ポリデキストロース混入商品

7. 終わりに

もともと日本人は食物繊維を多食する民族でしたが、戦後、食物繊維を含む食品は栄養が無いとして排除されてきた感があります。また、食物繊維は調理の際に減少するものではありませんが、白米の例をみるまでもなく加工の過程で失われることが多いようです。一方、食物繊維が少ない加工食品は増加の一途をたどってきました。その結果起こったのが大腸癌、糖尿病、高脂血症の増加と言われております。このような中で食物繊維の必要性が正しく認識されるようになったことは好ましいことです。

先ほども述べたように、最近では見直しの動きも盛んになり、食物繊維を添加した食品や飲料が多数販売されています。1994年になって厚生省は一人一日20gから25gという目標摂取量を提示しています。また、米国のアメリカ食品医薬局では1日20gから35gの摂取を推奨しています。

この食物繊維のなかで口当たりのよさもあり、水溶性低分子分画の割合が増えています。これらの定量はHPLC法が最適の方法であると言えます。ただし、ゲルろ過モードでは個々の糖の種類の間定までは出来ませんので、種類まで追求するなら他の分離モードとの組み合わせも必要になります。

なお、このレポートは松谷化学工業株式会社様のご協力の下に作成いたしました。あらためて深謝いたします。

参考文献

- 1) 「Evaluating an Analytical method for Complex Carbohydrate Determinations」
LEE, S. C., VINCENT, R., PROSKY, L., SULLIVAN, D. M.,
Cereal Foods World., 41 (2), 64 - 70 (1996)
- 2) 「Determination of Insulin and Oligofructose in Food Products, and Intergration in the AOAC Method for Measurement of Total Dietary Fibre」
QUEMENER, B., THIBAUT, J-F, COUSSEMENT, P.
Lebensm Wiss Technol., 27 (2) 125 - 132, (1994)
- 3) 「清涼飲料水等に含まれる水溶性食物繊維の定量」
片山聡子、桐ヶ谷忠司、宝井辰紀、日高利夫、渡部健二郎 上条昌弥、木川寛
横浜市衛生研究所年報., 31 (1991) 85 - 90, (1992)
- 4) 「食品中のポリデキストロースの定量法の検討」
関千加代、佐藤耕一
農林企画検査所調査研究報告., 13, 1 - 8, (1989)
- 5) 「Measuring dietary fiber in human foods」
MARLETT, J. A., CHESTERS, J. G.
J Food Sci., 50, (2) 410 - 414, 423, (1985)
- 6) 「Chemistry and analysis of soluble dietary fiber」
OLSON, A., GRAY, G. M., CHIUM - C
Food Technol., 41 (2) 71 - 80, (1987)

※“TSKgel”は東ソー株式会社の登録商標です。



TOSOH

東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部

東京本社 営業部	☎ (03) 6636-3733	〒104-0028	東京都中央区八重洲2-2-1
大阪支店 バイオエス	☎ (06) 6209-1948	〒541-0043	大阪市中央区高麗橋4-4-9
名古屋支店 バイオエス	☎ (052) 211-5730	〒460-0008	名古屋市中区栄1-2-7
福岡支店	☎ (092) 710-6694	〒812-0011	福岡市博多区博多駅前3-8-10
仙台支店	☎ (022) 266-2341	〒980-0014	仙台市青葉区本町1-11-1
カスタマーサポートセンター	☎ (0467) 76-5384	〒252-1123	神奈川県綾瀬市早川2743-1

お問い合わせe-mail tskgel@tosoh.co.jp

バイオサイエンス事業部ホームページ <https://www.separations.asia.tosohbioscience.com/>