

# デンプン粒の膨潤過程に関する研究（第一報）

岡 啓 次 郎

## 緒 言

1940年の後半、K. H. Meyer<sup>1)</sup>一門が、デンプンの構造に重大な寄与をする一連の研究を発表して以来、デンプン化学の主流は、もっぱら、デンプン分子の構造究明に集中されるようになった。

そして、その構造研究に関する大半の知識が、酵素化学的研究に負う所が甚だ大であったことは注目すべき事実である。これは、デンプンのような天然高分子物質は、その巨大分子が種々の化学的処理に対して弱いために、純粋な化学的方法ではその構造の細部を知り得ないことから、酵素作用を利用したものに外ならない。

しかるに、デンプンは生デンプンの状態では、きわめて酵素作用をうけにくい。したがって、デンプンの酵素化学的研究が、完全にのり化したデンプンを基質として、もっぱら行われてきたのは当然のことであった。（一方、生デンプンの消化性が、デンプンの種類やアミラーゼの種類により異なることも一部の研究者の注目をひいていた。）

ところが、近年、デンプンノリの流動学的研究がおこるにつれて、デンプンノリとは多少構造の破壊されたデンプン粒が、濃淡いろいろの真の意味のデンプン溶液中に不連続の相として漂っているものである<sup>2)</sup>ことが、今更のように再認識されるに至った。

このように、デンプンノリの粘度の増大の主因は、粒子が大きくなって水力学的抵抗を増すためであり、粒子の間に存在している液体の粘度が上るためではない以上、デンプン粒の初期の膨潤過程について根本的な研究が必要であると筆者は考えている。

ところが、デンプン分子の集合体であるデンプン粒に関する研究は、デンプン分子そのものの構造研究の蔭にかくれて、質的にも、量的にも甚だ立遅れているのが現状である。

このような研究不振には種々の原因が考えられるが、加熱によるノリ化では、デンプン粒の膨潤がきわめて短時間に起こり、膨潤過程を中間的に捕捉することが困難なことが、その主因であろう。

筆者は、さきにデンプンを加熱によらず、塩類により膨潤させるとき、添加する塩類の濃度を調節することにより、デンプン粒をきわめて緩徐に膨潤させ得ることを知り、そのさいに起こる粒形の変化を顕微鏡写真により撮影して<sup>3)</sup>きた。今回はこの方法を利用して、膨潤の種々の段階にアミラーゼを作用せしめ、膨潤過程にデンプン粒内部から溶出するデンプン成分を質量の両面から追求し、あわせて膨潤のいかなる時期にアミラーゼがデンプン粒の内部にまで作用するものであるかを明らかにしようと考えた。

しかるに、この種の研究は従来全く行われていないため、塩類の糖定量に及ぼす影響、塩類のアミラーゼ作用に及ぼす影響など、最初に検討すべき問題が多数存在した。

本報はこれらの問題に対する検討の結果と、その基礎の上に考案した実験法を適用した二つの実験例について報告する。

## 実験及び考察

### 1. 塩類の糖定量に及ぼす影響の検討

膨潤剤の塩類がデンプンを膨潤させるような高濃度でマルトースと共存している時、還元糖の定量が妨害されないかどうかをしらべた。

(方法)

糖液 1 mg % マルトース溶液

塩類溶液 2 M NaSCN, 2 M Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 2 M CaCl<sub>2</sub>

糖液と塩類溶液の等量混液(塩類濃度は1 Mとなる、)について、4種

の糖定量法を試みた。

(結 果)

	2 M NaSCN	2 M Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	2 M CaCl <sub>2</sub>
Bertrand 法	妨害する	妨害する	妨害する
Somogyi 法	〃	〃	〃
Folin-Wu 法	〃	〃	〃
Willstätter Schudel 法	〃	妨害しない	妨害しない
備 考 (Schudel 法をのぞき)	Cu <sub>2</sub> Oを生ぜず	Cu(OH) <sub>2</sub> の不溶性沈でんを生ず	

NaSCN を用いると糖の定量はできない。Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub> を用いると、Bertrand 法、Somogyi 法、Folin-Wu 法のごとき銅試薬を用いる定量法は適用できないが、Schudel 法のようなアルカリ性ヨウ素試薬を用いる定量法は適用できる。

以上のことから、膨潤剤としては Ca 塩、定量法としては Schudel 法を採用すべきことが分かったので、実地に定量をこころみ、下記のように満足すべき結果が得られた。

	供 試 液 の 組 成	0.1 Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 滴 定 数 cc
盲 検	水 20cc	5.1
対照区	1 mg% マルトース 10cc+水 10cc	4.8
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 区	〃 +2 M Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 10cc	4.8
CaCl <sub>2</sub> 区	〃 +2 M CaCl <sub>2</sub> 10cc	4.8

## 2. 塩類のアミラーゼ作用に及ぼす影響の検討

膨潤剤の塩類がデンプンを膨潤させるような高濃度で存在するとき、アミラーゼ作用を阻害するかどうか、阻害するとすれば、どの程度の濃度に稀釈すれば阻害しないかを検討した。

(方法)

反応液の組成	盲検 対照区 Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CaCl <sub>2</sub>			
基質溶液 (2%可溶性デンプン)	0	25	25	25
酵素液 (1%局法ジアスターゼ)	5	5	5	5
水	50	25	—	—
塩類溶液 (4M Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 又は4M CaCl <sub>2</sub> )	—	—	25	25
反応条件	37°C 1時間 N Hcl 2cc で反応停止			
定 量	Schudel 法 (定量供試量 10cc)			

(結果)

	0.1 N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> cc	反応液中 マルトース mg
盲 検	5.0	—
対照区	1.8	32.4
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 区	3.9	11.4
CaCl <sub>2</sub> 区	2.7	23.4

塩類が4M (反応時には約2M) 程度の高濃度では、アミラーゼ作用は完全に阻害される。

ただし、次のようにデンプンを膨潤後、塩類濃度を0.2M程度に稀釈した後、アミラーゼを作用させると、この程度の濃度では全く酵素作用を阻害しないことがわかった。

		0.1N Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> cc
対照区	デンプン1gを50ccの水で3分間加熱 ノリ化した後100ccに定容	2.3
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 区	デンプン1gを5ccの4M Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> でノリ化した後100ccに定容	2.3

ただしそれぞれに酵素液5ccを加え、37°C・1時間反応せしめた後、10ccをとり糖を定量した。

3. デンプンの塩類による膨潤過程においてアミラーゼを作用せしめるための実験法。

上記の検討の結果、次のような実験法を考案した。

(実験法の順序)

- (1) デンプンは  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  により膨潤させる。
- (2) 塩類の濃度はデンプンの種類により異なるが、3.0 M 以上の高濃度を必要とする。
- (3) 一定時間膨潤後、水を加え 0.2 M 程度に希釈する。(この操作で膨潤は停止する。)
- (4) アミラーゼを一定時間反応せしめる。
- (5) アミラーゼ反応停止後、一定量を取り、Schudel 法により生成した還元糖の量を定量する。

4. ジャガイモデンプンの塩類膨潤過程におけるアミラーゼ作用

ジャガイモデンプンに 3.2 M  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  を加え、膨潤の種々の段階においてアミラーゼを作用せしめ、生成する還元糖量から、膨潤の際のデンプンの分解率を測定し、検鏡によるデンプン粒の形状との関連を知ろうとした。

(方法)

デンプン 市販かたくり粉 (ジャガイモデンプン)

塩類溶液 3.2 M  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

酵素溶液 1% 局法ジアスターゼ

膨潤のさせ方 100cc メヤス付ビーカーに、デンプン 1g をとり、塩類 5cc を加え、ガラス棒で軽くかきまぜ、全体を湿し、室温に放置する。

膨潤時間 5分, 10分, 20分, 40分

膨潤の停止 100cc のメヤスまで水を加え希釈する。

対照区 100cc ビーカーにデンプン 1g をとり、50cc の水を加え、3分間加熱してノリ化し、次に塩類 5cc を加え 100cc に定容した。

酵素反応 37°C, 1時間。反応液は15分おきにガラス棒でかきまぜ、N

HCl 2 cc を加え反応を停止した。

生成還元糖の定量 反応液 10cc をとり、Schudel 法により糖を定量した。

(結果)

	0.1N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ cc	供試反応液中 マルトースmg	試料中 マルトースmg	デンプン 分解率%
盲 検	5.1			
対照区	2.2	4.78	512.0	57.0
膨潤 5 分後	4.9	0	0	0
膨潤 10 分後	4.8	0.19	18.2	2.0
膨潤 20 分後	4.7	0.35	37.4	4.2
膨潤 40 分後	4.0	1.59	170.0	18.9

他方、各膨潤時間において、酵素を加える前に、顕微鏡下にデンプン粒の膨潤状態を観察した結果は次のとおりであった。

膨潤 5 分後	デンプン粒の一部が膨潤をはじめた。
膨潤 10 分後	デンプン粒の大部分が膨潤した。
膨潤 20 分後	デンプン粒の一部に皺がよりはじめた。
膨潤 40 分後	デンプン粒の大部分に皺がよった。

デンプン粒に皺がよりはじめた状態は、ノリの粘性が低下しはじめた頃で、内容的には直鎖状のデンプン成分が粒の内部から溶出しはじめたときである。このころからアミラーゼによるデンプン分解率も急激に増加しはじめている。

#### 5. 塩類で膨潤させた種々のデンプンに対するアミラーゼ作用

種々のデンプン (地上デンプン 4 種, 地下デンプン 4 種) に 3,2 M  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  を加え膨潤させ、アミラーゼを作用せしめてデンプンの分解率を比較することにより、さきに  $\text{NaSCN}$  により試みた各種デンプンの膨潤限界濃度の順位や前報の塩類ビスコグラフにより得られた膨潤の難易の順位との

比較を試みた。

(方法)

6)  
デンプン 既報に使用した精製デンプン

地下デンプン	ジャガイモ	地上デンプン	モチゴメ
	サツマイモ		ウルチ米
	ヤマノイモ		コムギ
	タピオカ		トウモロコシ

酵素液 1%局法ジアスターゼ

塩類溶液 3.2M  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

膨潤のさせ方 4と同じ

膨潤時間 1時間

膨潤の停止 4と同じ

酵素反応 37°C, 2時間, 反応液は15分おきにガラス棒でかきまぜ, N

HCl 2 cc を加え反応を停止した。

生成還元糖の定量 4と同じ

(結果)

	0.1 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ cc	供試反応液中 マルトースmg	試料中 マルトースmg	デンプン分 解率 %
盲検	5.2			
ジャガイモ	2.9	3.52	380	42.2
サツマイモ	4.1	1.42	152	16.9
ヤマノイモ	4.9	0	0	0
タピオカ	5.0	0	0	0
モチゴメ	3.1	3.18	340	37.8
ウルチ米	2.7	3.90	418	46.4
コムギ	3.1	3.18	340	37.8
トウモロコシ	4.8	0.18	19	2.1

生成糖量の多い順に並べると次の通りである。

ウルチ米>ジャガイモ>モチゴメ=コムギ>サツマイモ>トウモロコシ  
>タピオカ=ヤマノイモ…………… (1)

反応液は反応終了後、ロ紙でろ過し、ロ紙上の未分解デンプンを水洗、乾燥後秤量した。その量は次の通りである。

ジャガイモ	0.35 g	モチゴメ	0.11 g
サツマイモ	0.62	ウルチ米	0.18
ヤマノイモ	1.01	コムギ	0.60
タピオカ	1.09	トウモロコシ	0.96

これを未分解デンプン量の少ない順序に並べると次の通りである。

モチゴメ>ウルチ米>ジャガイモ>コムギ>サツマイモ>トウモロコシ  
>タピオカ=ヤマノイモ…………… (2)

また分解液がロ紙を通過するろ過速度のおそいものから順に並べると、(2)と全く同じ順序であった。

5)  
(2)の結果は前報の塩類ビスコグラフにおける各種デンプンの膨潤の難易の順位とまったく一致した。

ここで注目すべきことは(2)と(1)を比較するとモチゴメデンプンは、未分解デンプンはもっとも少なく1位であるが、生成糖量は3位を示していることである。いま、未分解デンプン量と生成糖量の両者から分解デンプン量を算出して比較すると前者は後者の2.3倍になっている。このことからモチゴメデンプンではアミラーゼ分解後、ロ紙を通過するが、なお粘性を有する低分子のデンプン分解物が存在するのではないかと考えられる。

こころみに、ロ液のヨウ素呈色をしらべると、いずれもヨウ素呈色は陰性であるが、モチゴメデンプンのみは赤褐色を呈した。つぎに、ロ液濃縮物について、<sup>7)</sup>滝氏のペーパークロマトグラフにしたがい、ロ紙ストリップのBC間に带状につけ、風乾後、下降法により35% HClO<sub>4</sub>で展開させたところが、CD間に黄褐色のうすい呈色を生じた。このデンプン成分については目



下捕集して検索中である。

## 要 約

1. デンプンノリの流動学的性質の解釈には、ノリの粘性の主因をなす膨潤したデンプン粒の状態に関する研究が必要であると考え、デンプン粒の膨潤を塩類により緩徐に進行せしめながら、その過程に酵素を作用せしめ、粒の内部から溶出する成分について、また粒の内部の構造変化について追求しようと考えた。
2. そのための予備実験として、膨潤剤塩類の濃度と糖定量法およびアミラーゼ作用の阻害関係を検討した。
3. 上述の検討の結果、デンプンの塩類による膨潤過程においてアミラーゼを作用せしめるための実験法として、次の順序を定めた。
  - (1) デンプンは  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  により膨潤させる。
  - (2) 塩類の濃度はデンプンの種類により異なるが、3.0M 以上の高濃度を必要とする。
  - (3) 一定時間膨潤後、水を加え、0.2M 程度に稀釈する。
  - (4) アミラーゼを一定時間反応せしめる。
  - (5) アミラーゼ反応停止後、反応液の一定量を取り、Schudel 法により生成還元糖を定量する。
4. 上記の実験法を適用し、2 種の実験を試みた。
  - (1) ジャガイモデンプン粒の塩類膨潤過程にアミラーゼを作用せしめると、膨潤時間が長い程デンプン分解率は上昇したが、この時期は、検鏡によりデンプン粒に皺がよりはじめる頃であることが判明した。
  - (2) 塩類で膨潤させた種々のデンプンにアミラーゼを作用せしめた結果、各種デンプンのデンプン分解量の順位は、前報<sup>5)</sup>の塩類ビスコグラフにおける各種デンプンの膨潤の難易とほとんど一致した。ただし、モチゴメデンプンは未分解デンプンの割合に対し生成糖量が少なかったが、これはロ紙を通過する低分子のデンプン成分が生成されるためであること

を，ヨウ素反応およびペーパークロマトグラフの結果より推論した。

(本学教授)

## 文 献

- 1) K.H. Meyer, W. Brentano, P. Bernfeld ; *Helv. chim. Acta*, 23, 845 (1940) その他
- 2) W. Gallay ; *Canad. J. Res.*, 14B, 391, 409 (1936)
- 3) 岡啓次郎 ; 未発表
- 4) 坂入和彦, 岡啓次郎 ; *食*, 7, 51 (1959)
- 5) 岡啓次郎 ; *学習院女子短大紀要*, 1. 62 (1964)
- 6) 坂入和彦, 岡啓次郎 ; *食*, 6, 83 (1958)
- 7) 滝基次 ; *農化*, 30, 445 (1959)