

# 損傷デンプンの理化学性

松島由美子・青木みか

## The Physical and Chemical Property of the Damaged Starch

by

Y. MATSUSHIMA and M. AOKI

デンプンはアルコール、菓子その他の加工食品の原料として、また糊料として広く利用せられているが、最近とくに各種デンプン誘導体の合成が進むにつれ新しい合成高分子物質として、食品化工関係、医学、生化学方面への用途も開拓されつつある。一方デンプンの種々の物性はそのデンプンを得た植物によって著しく変化するか、各種デンプン粒の性状や糊化、老化に関する特性、生合成の機構などに関しては従来、J. Seidemann<sup>1)</sup>、R. L. Whistler<sup>2)</sup>、二国氏<sup>3) 4)</sup>、をはじめ多くの諸氏の報告がある。しかしデンプンを植物から分離し精製する過程や粉碎などの機械処理などによってできる損傷デンプンに関する研究は非常に少ない現状である。損傷デンプンは糊化点、膨潤性その他の性状を異にするため化工する場合、それらの粒子を鑑別する必要があり、すでに横沢<sup>5)</sup>、H. Huss<sup>6)</sup>、C. R. Jones<sup>7)</sup>、E. Baker<sup>8)</sup>、の諸氏により染色による鑑別法が報告されている。私共はさらに損傷デンプンの理化学性を明かにする目的をもって、ジャガイモ、カンショ、レンコン、インゲンマメのデンプンを試料として、人工的な物理的操作をほどこして損傷デンプンを作り次の4項目について実験し、無処理デンプンのそれと比較を行なったのでその結果について報告する。

- 1) 顕鏡下におけるデンプン粒の形態ならひに偏光
- 2) X-線回折図型による結晶構造
- 3) 電流滴定法によるヨウ素親和力
- 4)  $\alpha$ -、 $\beta$ -アミラーゼおよびパンクレアチンによる消化試験

### 実験方法および結果

#### 1. デンプン試料の調整

サツマイモ、シロバナインゲンマメ、レンコンは名古屋市における市販品を購入して常法<sup>9)</sup>により粗デンプンを製造し、この水懸濁液より沈殿法によりデンプンを分離する操作を1ヶ月余りくり返して精製した後、メタノールで洗浄し、風乾して150メッシュの篩を通したものを、ジャガイモデンプンは局方の市販品を用いこれらは無処理試料とした。さらに無処理試料約0.5gずつ磁製乳鉢に移し、乳棒で数時間磨砕し、Jones<sup>7)</sup>氏の0.2%コンゴレッド溶液による染色法を採用して顕鏡下に全粒子の損傷を確認したものを処理試料（損傷デンプン）として供試した。

#### 2. デンプン粒の形態ならひに偏光

デンプンはその由来する植物の種類によって粒子の形、大きさ、表面構造などの外観が相違する。一般に穀類デンプンは製造工程中に単粒化して小さな多角形を呈し、人工的に損傷を与

えたりそれを確認することか比較的困難であるため今回は粒子の大きいマメ類、イモ類、その他の地下デンプンを供試した。無処理試料の形態は付図 I-1a, 2a, 3a, 4a に示すとおりであり、ジャガイモは20~100 $\mu$ の楕円形、カンショは10~30 $\mu$ の多角形、レンコンは50~100 $\mu$ の長楕円形、インゲンマメは30~50 $\mu$ の卵形であるが、損傷デンプン（付図 I の1b, 2b, 3b, 4b）はいつでも粒子の一部または全部が破損されたり、圧扁されたりして不定形を呈する。デンプン粒の偏光はオリンパス顕微鏡 POS を使用して観察した。すなわち無処理試料（付図 II-5a, 6a, 7a, 8a）には偏心円の中心で交叉する十字の干渉線が明確に現れるが、損傷デンプン（付図 II-5b, 6b, 7b, 8b）においては干渉線はほとんど消失し、残存する部分も奇型を呈するものが多い。このことより粒の偏心円の中心から放射線状に分岐する分子の物理的構造が損傷により変化したことか推定される。

### 3. X線回折による結晶構造

X線回折は理学電機製自記式X線ディフラクトメーターを使用し、試料は水分約20%に調整

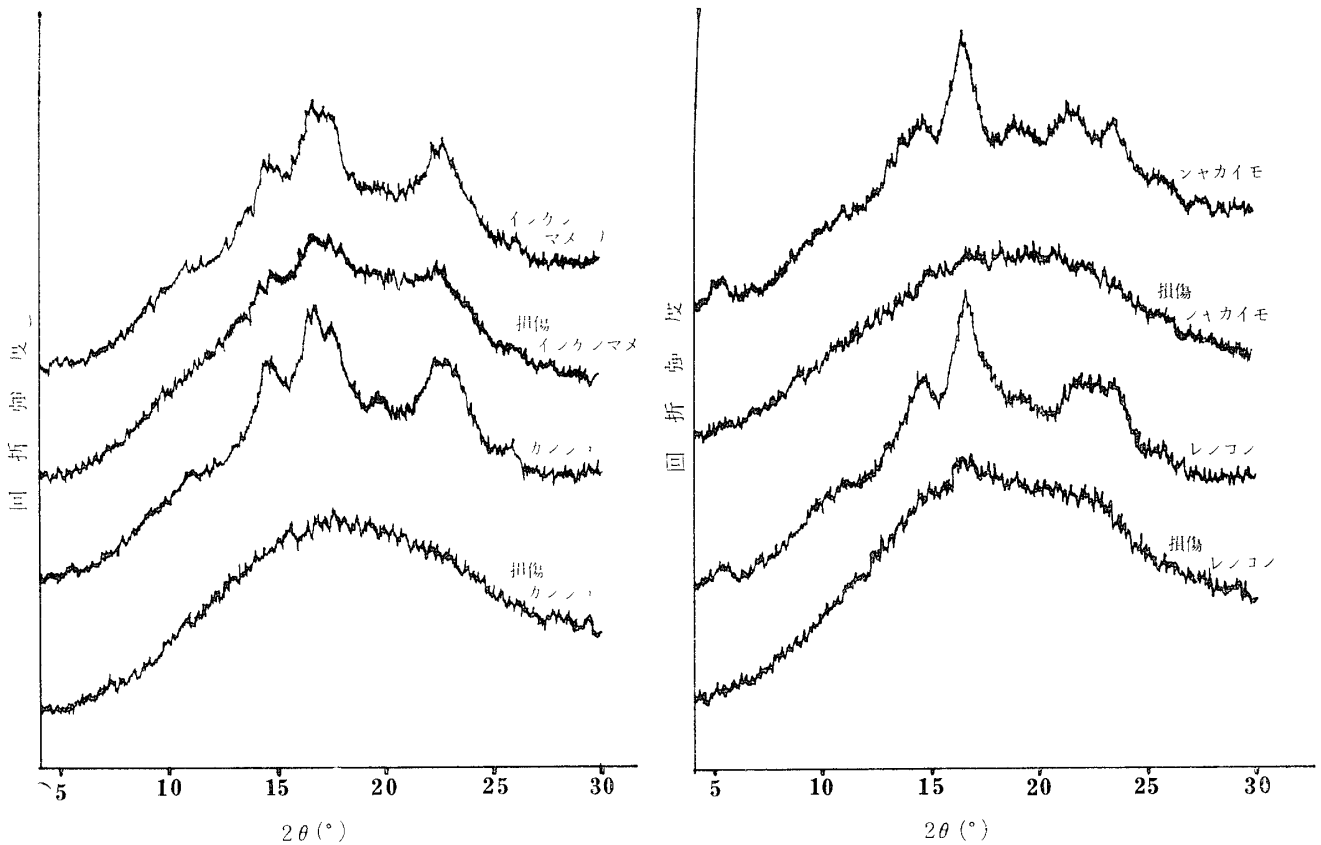


図1 テンプンのX線回折像

して薄層とした。測定に際してX線管は銅対陰極のものを用い発生X線はNiフィルターでK $\beta$ 線を除いてK $\alpha$ 線のみを選択した。操作条件は電圧30KV、電流15mA、Scale Factor 16、Multiplier 0.8、Time Constant 2秒、走査速度2°/min、紙速度2cm/min、発散スリット1°、受光スリット0.4mmでX線反射角 $2\theta$ 3°から30°まで記録した。

デンプン粒においては結晶構造の干渉によって出来る回折図型かデンプンの種類によって異なることはkatz<sup>9)</sup>の報告以来よく知られており、一般に根茎デンプンはジャガイモ(B図形)に近く、禾本科の種実デンプンはトウモロコシ(A図形)に近く、その間にデンプンの種類に

よって種々の図型が連続的に移り変ってゆくことはすでに報告<sup>10, 11)</sup>されている。今回測定した無処理試料においてもジャガイモデンプンは4a環(2θ 17°)の回折が著しく、第5および第6環(2θ 23°)はそれぞれa, bに分岐してB図型を示すか、インゲンマメ、カンショにおいては第4環(2θ 17°)のa, bの分岐は明確であるが、第5および第6環はいずれも分岐が不明瞭でC図型を呈し、レンコンもC図型に近い回折像を示している。一方、損傷デンプンにおいてはいずれの試料も明確な回折像が認められない。すなわち人工的な損傷処理によりデンプン粒の結晶構造にも変化のおよぶことが認められた。

#### 4. ヨウ素親和力の測定

##### 1) 実験方法

ヨウ素親和力は電流滴定法によって測定した。これはデンプン溶液に電流滴定でヨウ素を加えてゆくと、デンプンのラセン構造にヨウ素が入って複合体を形成するかその間、電流に変化なく複合体形成が終ると急に電流増加の起ることを利用して、それぞれのデンプンのヨウ素親和力を算出するものであるか、測定法は下記のとおり奈良、前田<sup>12)</sup>の方法によって行った。

##### i) 装置

電子管電圧計(東亜電波工業K. K. 製, AD7型), 1 KΩ 抵抗, 電極(白金および甘汞)

##### ii) 試薬

ヨウ素溶液: 0.2 mg I<sub>2</sub>/0.05N-KCl, KI溶液/ml

試料溶液: デンプン 50 mg を 0.5N-KOH 10 ml で溶解し, 1時間放置して0.5NのHClで中和し, 水で90mlとし, 0.5NのKI 10 ml加える。

対照溶液: 0.5NのKOH 10mlを0.5NのHClで中和後, 水で90mlとする。

##### iii) 操作方法

電極は直接測定溶液に挿入し, 測定液は湯浴で加温してスターラーで回転して25°Cに保持する。ヨウ素溶液は2分ごとに1 ml, 対照溶液の場合は1分毎に0.5 mlずつ滴下し, 電流が2.5 μAを越えるまで滴定を行い, ヨウ素溶液滴定値からヨウ素親和力(吸着ヨウ素量)を算出する。

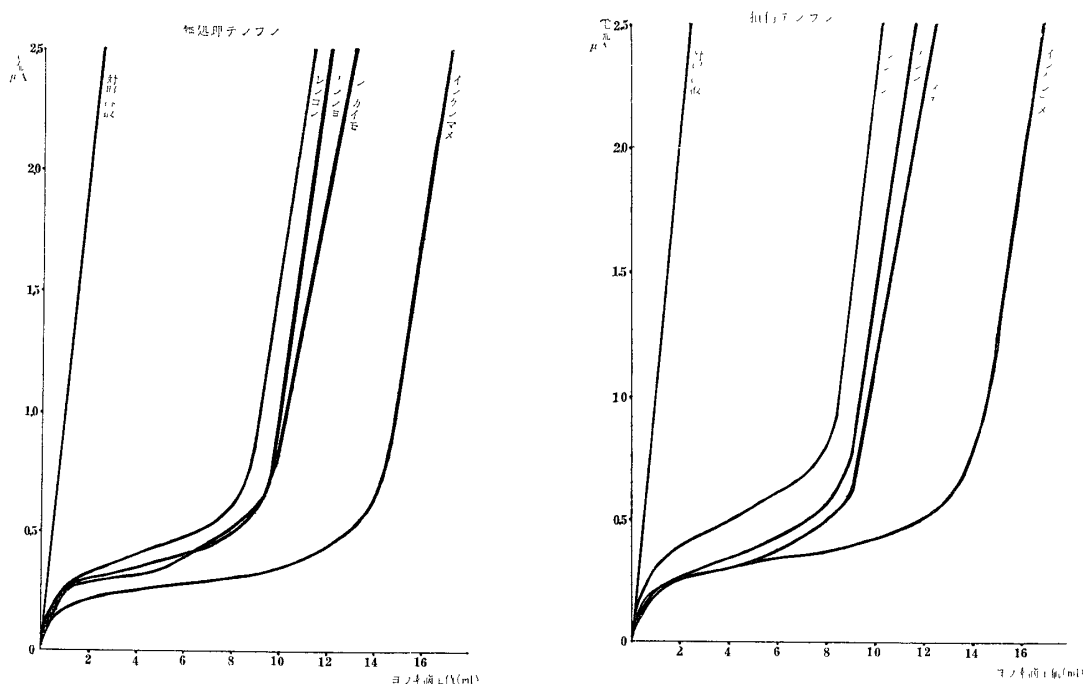


図2 テンプンのヨウ素電流滴定曲線

測定事項	デンブン名		ジャガイモ		カンショ		レンコン		インケンマメ	
	処理法		無処理	損傷	無処理	損傷	無処理	損傷	無処理	損傷
	ヨウ素親和力 (ヨウ素g/デンブン100g)	3.67	3.93	3.76	3.68	3.51	3.34	6.43	6.13	
アミロース含有量 (%)	19.31	20.65	19.79	19.37	18.47	17.53	33.82	32.26		

表1 デンブンのヨウ素親和力

## 2) 測定結果

電流滴定曲線は図2に示すとおりであるが、対照溶液の0点における水平線と滴定曲線における直立部の延長との交点を、求めるヨウ素量としてデンブン（無水物）100g中のヨウ素結含量（g）を求めた。またアミロースのヨウ素親和力を19%として供試デンブンのアミロース含有量（%）を算出しこれらの結果を表1に示した。

すなわち、ジャガイモデンブン以外はいつれの試料も損傷処理によってヨウ素親和力かわすかに減少し、アミロース含有量は0.42~1.56%減少する。これはアミロースの $\alpha$ -1, 4グルコシッド結合の極1部が損傷処理の操作によって物理的に切断される可能性が暗示されるように思われる。

## 5. 酵素による消化実験

### 1) $\alpha$ -アミラーゼの作用

#### i) 測定方法

デンブン試料0.1gにPH6.8の $\frac{M}{100}$  磷酸緩衝液20ml, 0.5%  $\alpha$ -アミラーゼ（片山化工 K. K. 製, 精製細菌 $\alpha$ -アミラーゼ: Blue value 法による力価は0.001%溶液  $DB_{mp\Delta}^{40\ 30'} = 24.64$ ）1ml添加し, 37°Cの恒温器で時々容器を振盪して所要時間反応させた後, 10% HCl 0.2ml添加して反応を停止し, 遠心分離の上清0.5mlを採取し, Somogi Nelson法<sup>1)</sup>により還元糖を呈色させ530m $\mu$ の吸光度を測定し, 検量線より生成麦芽糖量を算出した。

#### ii) 実験結果

基質デンブン名	処理法	作用時間 (hr)		
		2	4	6
ジャガイモ	無処理	1.34	1.11	0.51
	損傷	21.23	26.82	26.51
カンショ	無処理	0.76	0.90	1.37
	損傷	21.96	23.06	16.03
レンコン	無処理	0.65	0.59	0.62
	損傷	19.16	19.45	20.42
インケンマメ	無処理	0.98	0.93	0.73
	損傷	20.55	25.96	24.56

表2  $\alpha$ -アミラーゼによる生成麦芽糖量 (mg/基質0.1g)

各試料のデンプン無水物 0.1g 当りの生成糖量は表 2 のとおりであり、基質 100g に対する生成麦芽糖量を百分率で示したのが図 3 である。いづれの試料においても損傷処理により、酵素反応は著しく増加し、生成糖量は無処理試料の10倍以上の増加を示すことが認められた。

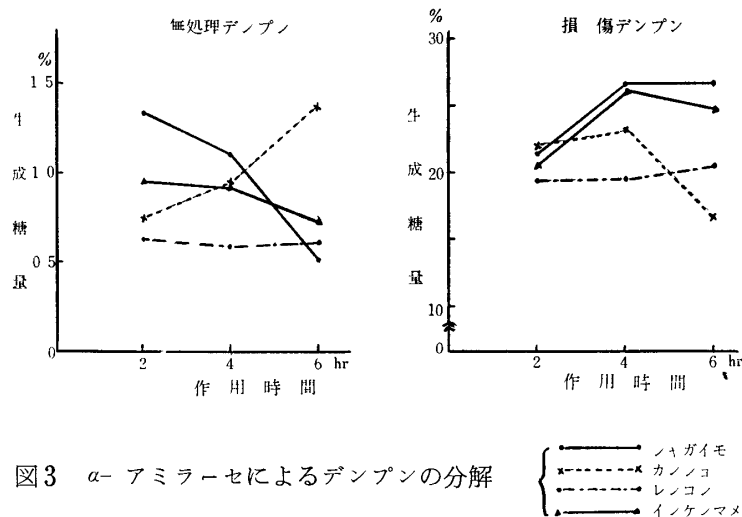


図 3  $\alpha$ -アミラーゼによるデンプンの分解

2)  $\beta$ -アミラーゼの作用

デンプン 0.1g に PH 6.8 の  $\frac{M}{100}$  磷酸緩衝液 5.0ml, H<sub>2</sub>O 5.0ml, 0.5%  $\beta$ -アミラーゼ (片山化学製) 1 ml を添加し, 37°C の恒温器で時々容器を振盪して所要時間反応させた後, 前記  $\alpha$ -アミラーゼの時と同様に反応液の生成麦芽糖量を表 3 に示し, 基質 100g 当りの麦芽糖量の百分率を図 4 に示した。

基質デンプン名		作用時間 (hr)		
		2	4	6
ジャガイモ	無処理	0.22	0.32	0.22
	損傷	2.85	3.12	2.25
カンショ	無処理	0.18	0.28	0.20
	損傷	2.10	3.99	2.44
レンコン	無処理	0.17	0.34	0.21
	損傷	1.90	1.98	1.72
インゲンマメ	無処理	0.16	0.27	0.36
	損傷	2.38	2.79	2.33

表 3  $\beta$ -アミラーゼによる生成麦芽糖量 (mg/基質0.1g)

損傷処理により  $\beta$ -アミラーゼの基質分解率は無処理基質の約10倍増加することを認めた。

3) パンクレアチンの作用

デンプン 0.4g にゼラチン, CaCl<sub>2</sub> 各々30mg を含む水溶液15ml, 市販パンクレアチン 2% 溶液 5 ml (力価107.55単位) を添加し, 反応液20ml (PH 6.5) を 35°C の恒温器で時々振盪して所要時間反応させた後 IN-HCl 2 ml 添加して作用を停止し, その濾液を 100ml に定容して 10ml

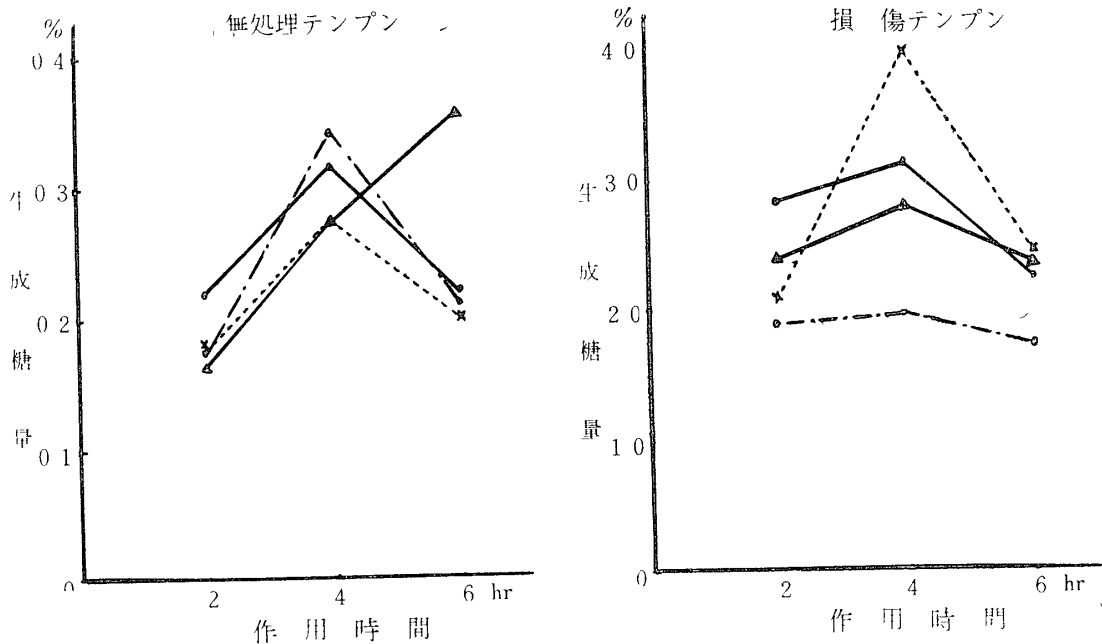


図4  $\beta$ -アミラーゼによるデンプンの分解

—○— カイネ  
 - - - × - - - カンショ  
 - - - △ - - - レンコン  
 —●— インゲンマメ

基質 デンプン名	処理法	作用時間 (hr.)			
		2	4	6	15
ジャガイモ	無処理	5.11	27.87	34.06	51.09
	損傷	93.66	136.24	153.27	204.36
カンショ	無処理	17.03	65.08	76.63	153.27
	損傷	110.69	139.44	158.38	212.87
レンコン	無処理	5.11	39.17	47.68	110.69
	損傷	114.10	165.19	173.71	173.71
インゲンマメ	無処理	52.79	103.88	137.94	223.09
	損傷	170.30	187.33	204.36	258.86

表4 パンクレアチンによる生成麦芽糖量 (mg/基質0.4g)

中の還元糖を Willstatter-Schudel 法<sup>14)</sup>で定量し、その結果を表4および図5に表示した。

パンクレアチンを作用させた場合は、いつれの基質も作用時間の延長とともに生成糖量が増加し損傷デンプンは15時間作用により45~65%分解され、無処理のデンプンも10~55%の分解を示した。損傷、無処理試料ともインゲンマメが最もよく分解され、ジャガイモが最も分解され難く個々のデンプンの分解順位については、 $\alpha$ -、 $\beta$ -アミラーゼの分解と多少異なる結果を得た。パンクレアチンは種々の酵素が混合し、 $\alpha$ -、 $\beta$ -アミラーゼのように純粋なデンプン分解酵素ではないか、無処理のデンプンの分解が $\alpha$ -、 $\beta$ -アミラーゼの時よりも促進される傾向が認められるのは興味深い。

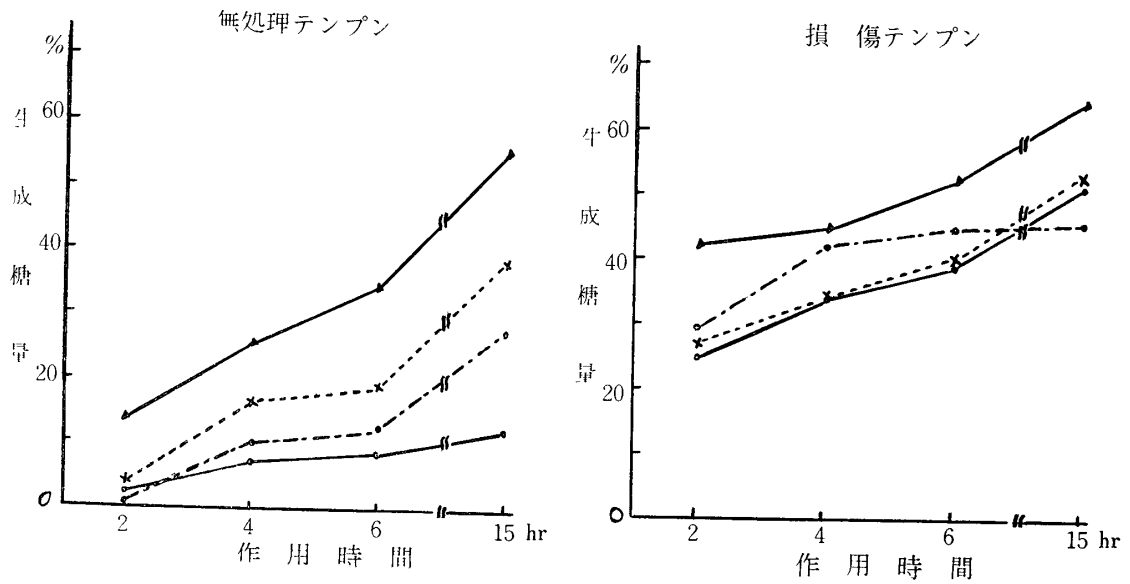


図5 パンクレアチンによるデンプンの分解

○ ジャガイモ  
 × レンコン  
 ● インゲンマメ  
 △ コンニャク

4) 基質処理の酵素反応速度への影響

テンプンのアミラーゼによる分解は一次反応であるか、 $\alpha$ -、 $\beta$ -アミラーゼおよびパンクレアチンを上記の方法で各々2時間作用させた時の反応速度恒数(K)を次式より算出し、その結果を表5に示した。

$$K = \frac{2.303}{t} \log \frac{a}{a-x}$$

a: 基質初濃度 (mg) × 0.75

t: 酵素作用時間 (分)

x: 生成麦芽糖量 (mg)

基質デンプン名	酵素名			$\alpha$ -アミラーゼ	$\beta$ -アミラーゼ	パンクレアチン
	処理法					
ジャガイモ	無	処	理	$1.380 \times 10^{-4}$	$2.247 \times 10^{-5}$	$1.405 \times 10^{-4}$
	損	傷	傷	$2.197 \times 10^{-3}$	$2.633 \times 10^{-4}$	$3.120 \times 10^{-3}$
こんにゃく	無	処	理	$7.547 \times 10^{-5}$	$1.752 \times 10^{-5}$	$4.857 \times 10^{-4}$
	損	傷	傷	$2.395 \times 10^{-3}$	$2.017 \times 10^{-4}$	$3.839 \times 10^{-3}$
レンコン	無	処	理	$6.145 \times 10^{-5}$	$1.670 \times 10^{-5}$	$1.405 \times 10^{-4}$
	損	傷	傷	$2.101 \times 10^{-3}$	$1.863 \times 10^{-4}$	$3.990 \times 10^{-3}$
インゲンマメ	無	処	理	$9.033 \times 10^{-5}$	$2.277 \times 10^{-4}$	$1.616 \times 10^{-3}$
	損	傷	傷	$2.197 \times 10^{-3}$	$2.074 \times 10^{-4}$	$6.989 \times 10^{-3}$

表5 デンプン分解酵素の反応速度恒数

即ち、いずれの試料においても損傷処理によって反応速度恒数は無処理の場合より著しく増

大するか。特に $\alpha$ -アミラーゼにおいてはカンショ、レンコン、インゲンマメで100倍以上の増加を認めた。

## 考 察

1) デンプン粒の偏光およびミセル構造の崩壊は、一般にデンプンを加熱した場合の化学的变化に起因すると考えられているが、物理的な損傷処理によっても比較的速やかに結晶構造の変化することか認められた。

2) 電流滴定法によるヨウ素親和力は、カンショ、レンコン、インゲンマメの損傷試料においては無処理試料に比較し、デンプン100g当り0.3~0.08g減少するのみで著しい変化は認められない。Jones氏<sup>7)</sup>は0.1~0.35%コンゴレット溶液または0.02%ヨウ素溶液による損傷粒の選択的染色性を報告し、横沢氏<sup>8)</sup>も損傷デンプンにみられる染色親和度の変化はそのデンプン粒の複屈折の減少と並行するとのべている。これらの報告と、今回の実験結果すなわち損傷デンプンをKOHで溶解した後のヨウ素親和性に著変の認められない事実を考え合せると、損傷によってデンプン粒の表面構造の変化やアミロース分子の露出などか起って粒の染色性は変化するが、分子の $\alpha$ -1,4グルコシド結合などを切断するような変化は極めて微少にしか生起しないことか示唆される。

3) 酵素作用は $\alpha$ -、 $\beta$ -アミラーゼ、パンクレアチンいずれの場合も無処理試料より損傷試料の方がはるかに分解され易い。一般にデンプンの酵素分解に際しては基質と酵素の結合性や吸着の難易、混在する微量成分の影響などか考えられるが、損傷によるデンプン粒の表面構造の変化、表面積の増大、ミセルの崩壊など物理的因子が著しく影響する事実を確認した。一方、無処理のデンプン(0.1g)に水(10ml)を加えて100°Cに10分加熱し完全に糊化した $\alpha$ -デンプンと、生の損傷デンプンをそれぞれ基質として0.5% $\beta$ -アミラーゼ1ml添加し37°Cで2時間作用させた処、表6に示すような結果を得た。

測定事項	ジャガイモ		カンショ		レンコン		インゲンマメ	
	損傷	$\alpha$ -化	損傷	$\alpha$ -化	損傷	$\alpha$ -化	損傷	$\alpha$ -化
$\beta$ -アミラーゼによる生成麦芽糖量(mg)	2.85	2.98	2.10	2.90	1.90	2.74	2.38	2.24
$\beta$ -アミラーゼの反応速度恒数	$2.633 \times 10^{-4}$	$3.093 \times 10^{-4}$	$2.017 \times 10^{-4}$	$2.940 \times 10^{-4}$	$1.863 \times 10^{-4}$	$2.633 \times 10^{-4}$	$2.777 \times 10^{-4}$	$2.074 \times 10^{-4}$

作用条件：基質 0.1g, 酵素 0.5%, 溶液 1ml, 反応液 10ml, 作用 37°C 2hr

表6  $\alpha$ -デンプンと損傷デンプンの酵素分解

すなわち、生成麦芽糖量はジャガイモ、カンショ、レンコンにおいて $\alpha$ -デンプンの方が多少増大するか、インゲンマメの場合は損傷デンプンの方がむしろ分解され易く、酵素による消化性に対しては損傷処理も糊化と同様な結果を招くことか認められた。またインゲンマメはアミロース含有量も供試料中最も多く(表1参照)パンクレアチンによっても最も速かに分解される(図5)事実より、これらのことも考慮すればミセルの部分か少いかその結合か比較的ゆるく酵素の浸透か容易に起ることか示唆されて興味深い。



## ま と め

1) ジャガイモ, カンショ, レンコン, シロバナインゲンマメより損傷デンプンを調整し, その偏光, X線回折像, ヨウ素親和力, 酵素による分解率などを無処理のデンプンと比較検討した.

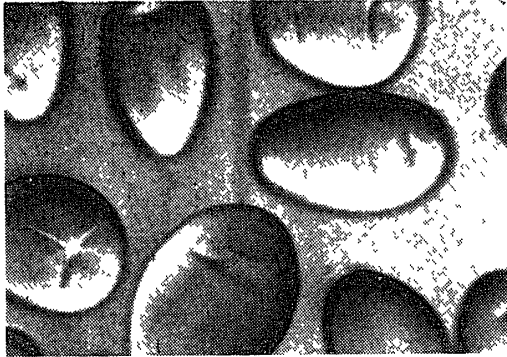
2) 偏光ならひにX線回折像による結晶構造は損傷処理によって速かに消失するか, 電流滴定法によるヨウ素親和力は損傷デンプンと無処理デンプン間に大きな差異か認められない.

3)  $\alpha$ -アミラーゼ,  $\beta$ -アミラーゼによる生成糖量は損傷デンプンが無処理のものより10倍以上も多く, パンクレアチンによる分解も損傷試料の方が若干促進される. これらの結果と糊化デンプンの消化性とを比較して考察を加えた.

実験に際し御懇切な御指導を賜った岐阜大学名誉教授高橋悌蔵先生ならひに実験装置の操作にあたり御指導賜った三重大学教授滝基次先生, 前田巖氏に深く謝意を表します.

## 文 献

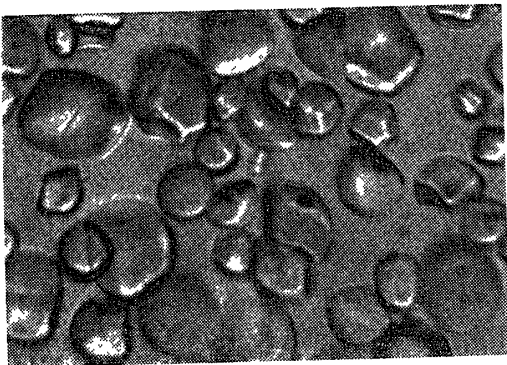
- 1) Johannes Seidemann : Starke-Atlas (1966)
- 2) Roy L Whistler, E. F Paschall etc : Starch (1965)
- 3) 二国二郎編集 : デンプンハンドブック (1961)
- 4) 二 国 二 郎 : 澱粉化学 (1957)
- 5) 横 沢 一 二 : 澱工, 3, 112 (1955)
- 6) H Huss : Arkiv, Botanik 18, 1 (1922)
- 7) C R Jones : Cereal Chem 17, 133 (1940)
- 8) E. Baker : J Sci, Food Agr 12, 608 (1952)
- 9) Katz. J R : Z phys Chem, 150, 90 (1930)
- 10) 松 作 進 : 化学と生物 2, 282 (1964)
- 11) 二 国 二 郎 : 蛋白核酸酵素 13, (2), 77 (1968)
- 12) 奈良省三, 前 田 巖 : 農化, 38, 509 (1964)
- 13) 山 川 民 夫 他 : 生化学実験法 I p.256 (1967)
- 14) 同 上 : 同 上 p.258



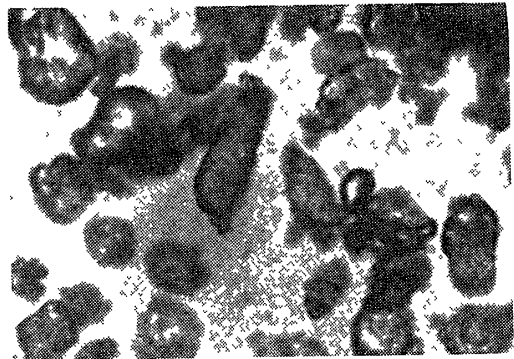
1a ジャガイモテンポン



1b 損傷ジャガイモテンポン



2a カンショテンポン



2b 損傷カンショテンポン



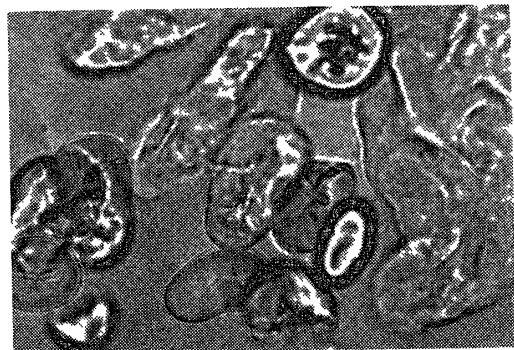
3a レンコンテンポン



3b 損傷レンコンテンポン

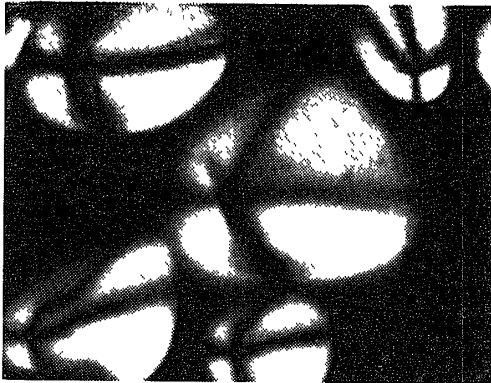


4a インケンマメテンポン

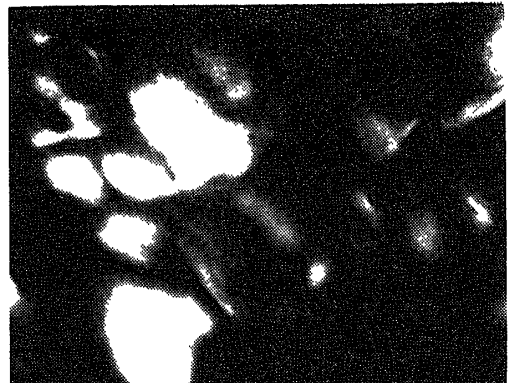


4b 損傷インケンマメテンポン

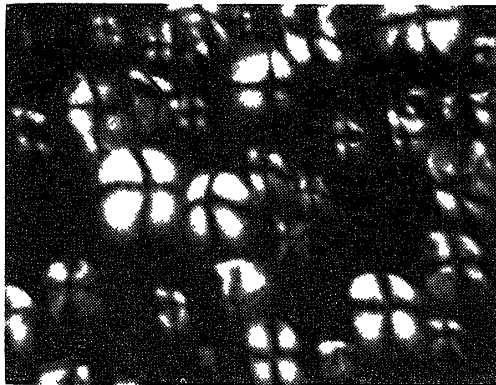
図 版 II



5a ジャカイモテンブン



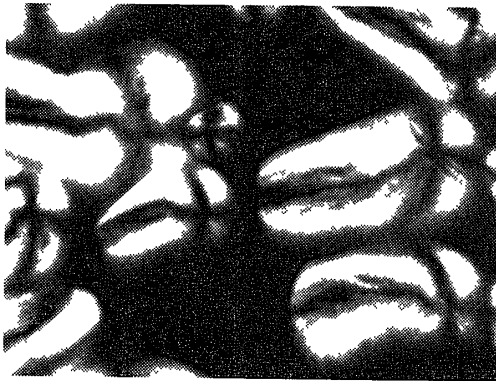
5b 損傷ジャカイモテンブン



6a カンショテンブン



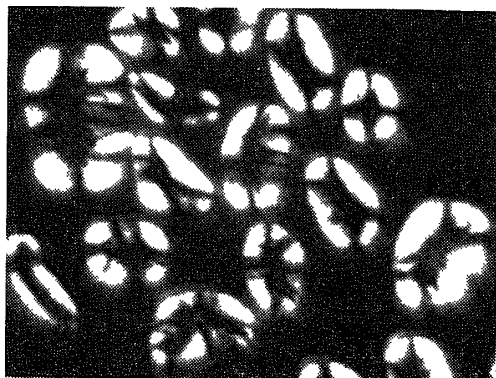
6b 損傷カンショテンブン



7a レンコンデンブン



7b 損傷レンコンデンブン



8a インケンマメテンブン



8b 損傷インケンマメテンブン