澱粉粒の酵素分解—*in vivo* と *in vitro*—

不破英次*・杉本温美*・高谷友久*

The *in vivo* and *in vitro* Degradation of Starch
Granules by Starch-degrading EnzymesHidetsugu FUWA, Yoshimi SUGIMOTO and Tomohisa TAKAYA
Department of Food and Nutrition, Osaka City University
(459 Sugimoto-cho, Sumiyoshi-ku, Osaka 558, Japan)

Starch granules of potato, Chinese yam (tubers of *Dioscorea batatas* Decene), banana (fruits of *Musa cavendishii* L.), lily (bulbs of *Lilium* sp.), ginkgo (seeds of *Ginkgo biloba* L.), high-amylose maize, lotus (tubers of *Nelumbo nucifera* Gaertn), chestnuts (seeds of *Castanea crenata* Sieb et Zucc), kuzu (Japanese arrowroot, *Pueraria lobata* Ohwi) and sweet potato were respectively in decreasing order more resistant to the action of pancreatin than were those of normal maize, wheat, rice, red corn (maize morado) and taro (roots of *Colocasia antiquorum* Schott). Although starch granules of roots and tubers were, in general, more resistant to the action of amylases than those of cereals, taro starch granules were highly susceptible and starch granules of banana, ginkgo, high-amylose maize and chestnuts were rather resistant to the action of pancreatin compared with those of the normal maize.

Approximately 50% of either potato or banana starch granules ingested by rats fed diets containing the starch granules as the main carbohydrate disappeared in rat bodies with making corrections for starches in feces and in contents of the gastrointestinal tracts. By scanning electron microscopy (SEM), starch granules isolated from the digestive tracts of rats fed either potato or banana starch diet showed typical patterns of the enzymatic attack, probably those of α -amylase, on their surface layers and inner portions.

We confirmed by quantitative determination of starch and by SEM of starch granules that post-ripening banana pulp has an efficient system of starch-degrading enzymes for banana starch granules which are highly resistant to the *in vitro* digestion by amylases.

生澱粉(澱粉粒)の酵素分解のテーマは、第9回のシンポジウム(1974年)^{1,2)}につづいて、昨年(1977年)^{3,4)}とりあげた。しかし、昨年は*in vivo*の話題まで十分時間をさくことができなかったので、今回も継続テーマとした。今回は本報告で*in vivo*を中心に*in vitro*も含めた研究の概要を紹介し、檜作⁵⁾が澱粉粒の酵素分解とリン酸の関係を、また前田⁶⁾が澱粉粒の酵素分解における枝切り酵素の役割についてのべた。

根茎の澱粉粒、すなわち地下澱粉粒は、一般に、種実の澱粉粒のような地上澱粉粒に比べ、酵素作用をうけに

くいことは古くから知られている。Fig. 1に各種澱粉粒のパンクレアチンによる分解性を、正常トウモロコシ澱粉粒の分解率を100とし、相対的な分解されやすさで示した⁷⁾。この場合、サトイモ澱粉粒のように地下に生成するが非常に酵素作用をうけやすいもの、また、高アミローストウモロコシやバナナ澱粉粒のように地上で生成するが分解されにくいものがあることが解る。

われわれは、種々の澱粉粒の*in vivo*および*in vitro*での分解されやすさ、および分解のされ方について研究を進めてきた⁷⁻¹⁰⁾。すなわち、*in vitro*では分解率を測定するとともに、分解後残存している澱粉粒を走査電子顕微鏡(SEM)で観察した。その結果、比較的分解されやすい澱粉粒、たとえば正常トウモロコシ澱粉粒は、酵

* 大阪市立大学生活科学部
(558 大阪市住吉区杉本町 459)

Fig. 1. Relative susceptibility of various starch granules to pancreatin.

Reaction mixture contained 40 mg of starch granules, 6.7 mM phosphate buffer (pH 7.2), 10 mM sodium chloride, 10 mM calcium acetate and 0.5% hog pancreatin (Sigma, type I-A) in a total volume of 1.5 ml. Incubation was made at 37°C. Two blanks were run simultaneously. One under identical conditions except for the starch granules and the other identical except for the enzyme. At 5 hr, 8.0 ml of ice-cold water was added to the mixture. After stirring and centrifugation, an aliquot of the supernatant was used for assay of solubilized carbohydrates by the phenol-sulfuric acid method. Data were expressed on the basis of a relative percentage of commercial normal maize control enzyme degradation determined as a percentage glucose equivalent.

素作用を受けた後、表面に多数の穴を生じ、反応の進行にともないこれらの穴は数および大きさを増すとともに粒の中心に向かって進み、やがて内部の層状構造がみえ、粒がこわれる¹¹⁻¹⁵⁾。一方、分解されにくいジャガイモや高アミローストウモロコシ澱粉粒では、酵素作用を受けた後も、表面に僅かな傷あとを生ずる程度で、形や表面の状態など、酵素を作用させていないものとの澱粉粒との差が少ない^{11,14,15)}。

次に、ジャガイモ、ヤマノイモおよび高アミロースト

Fig. 2. Digestion of starch granules of banana, potato and normal maize by rat-pancreas extract, hog pancreatin and fungal glucoamylase.

Figures on the vertical line are duration of enzymatic reaction in hr.

ウモロコシの澱粉粒は、*in vitro* でアミラーゼの作用を非常にうけにくいものであるが (Fig. 1), これらの澱粉粒のいずれかを主な炭水化物源としてラットを飼育すると、摂取された澱粉粒の半分以上がラット体内で消失する。また、これらの場合、ラットの胃や小腸など消化管の内容物から分離した澱粉粒は、SEM 観察の結果、かなり酵素攻撃を受けており、表面に穴のあいたもの、あるいは内部構造のみえるものもあった^{9,10)}。

先にも述べたように、バナナ澱粉粒も *in vitro* でアミラーゼ作用をうけにくい (Fig. 1, 2). Fig. 2 に示した *in vitro* の実験に用いた3種類の澱粉粒と同じものを、

Table 1. Composition of diets.

	Diet I (%)	Diet II (%)	Diet III (%)
Casein	25.00	25.00	25.00
Banana starch granules	50.00	—	—
Potato starch granules	—	50.00	—
Corn starch granules	—	—	50.00
Pregelatinized starch	9.00	9.00	9.00
Corn oil	5.00	5.00	5.00
Mineral mixture	5.00	5.00	5.00
Vitamin mixture	0.85	0.85	0.85
Choline chloride	0.15	0.15	0.15
Cellulose powder	5.00	5.00	5.00

Table 2. Body weight gains, food intakes and feces weights of rats fed diets containing starch granules as the main carbohydrate.

Diets	I-Banana	II-Potato	III-Corn
Initial body wt(g)	65.7±2.80	65.8±2.52	65.8±3.54
Gain (g) {4 wks	187±17.4	192±15.8	208±19.4
4 wks-I. T. *(A)	160±16.2	169±16.6	198±16.8
Food consumed (g) (B)	575±57.4	612±72.3	481±34.4
Food efficiencies(A/B)	0.28±0.01	0.28±0.01	0.41±0.02
Feces weights(g)	200±33.1	241±45.3	37.7±2.75
Apparent digestibility of food(%)	60.7±2.17	57.0±2.19	90.1±0.54
Apparent digestibility of starch granules(%)	48.8	44.5	97.9

* Weights of contents of stomach, intestine (small+large) and ceacum.

主たる炭水化物源とする3種類の飼料 (Table 1) でラットを飼育した結果を, Fig. 3 および Table 2 に示した¹⁶⁾. ラットの見かけの成長は3種類の飼料で有意差がないが, 4週間飼育後の体重増加からラット消化管内容物の重量をひくと, パナナあるいはジャガイモ澱粉粒飼料で飼育したラットの体重増加はトウモロコシ澱粉粒飼料のものより有意に低い. パナナ澱粉粒飼料で飼育したラットの小腸内容物から分離した澱粉粒 (Fig. 4) と, 糞中に含まれる澱粉粒 (Fig. 5) は, SEM 観察で, 外側から部分的に分解され表面に条痕のみられるもの, あるいは内部の層状構造のみられるものの存在が解る¹⁶⁾. これらの結果も, *in vivo* で澱粉粒分解の主体が amylase であることを示唆している. しかし, ラット体内でパナナやジャ

Fig. 3. Body weight gains and food intakes of rats fed diets containing starch granules of banana, potato and normal maize as the main carbohydrate.

Fig. 4. Scanning electron photomicrograph (SEM) of starch granules isolated from the small intestine of rats fed the banana starch-granule diet.

For specimen mounting and scanning electron microscopy, see references 9-15, 20 and 23.

Fig. 5. SEM of the cross-section of a grain of feces of rats fed the banana starch-granule diet.

Fig. 7. SEM of starch granules in freeze-dried slices of banana pulp. a and b, green banana; c and d, 3 days after ethylene-gas treatment; e and f, 5 days after ethylene-gas treatment.

a, 0 day $\times 500$; b, 0 day $\times 1,000$; c, 3 days $\times 500$; d, 3 days $\times 2,000$; e, 5 days $\times 500$; f, 5 days $\times 2,000$.

ガイモ澱粉粒が能率よく消化されるのは、強力な澱粉分解酵素系¹⁷⁾に加えて、口腔や消化管での物理的損傷、胃の塩酸^{18,19)}や小腸での胆汁酸塩¹⁹⁾の協力効果などによるものであろう。

一方、根茎や種子が発芽する時、当然のことながら、自身のもつ澱粉粒を分解して、エネルギーをうるとともに、新しい組織や器官を形成する素材に用いている。事実、*in vitro*では正常株のものに比べて分解されにくい澱粉粒をもつ高アミローストウモロコシの種子は、発芽率が相当する正常株の種子とはほぼ同じであり、発芽後の成長速度も僅かに劣る程度である。このとき、胚乳澱粉粒のSEM観察を行うと、 α -amylaseが*in vivo*でも分解の主役となっていることが推定された²⁰⁻²²⁾。また、同様の観察は、発芽中のマメ類の子葉中の澱粉粒についてもなされた^{23,24)}。しかし、オオムギ^{1,6,25)}やリョクトウ種子^{23,26,27)}の暗所発芽の際の酵素系の変化から、 α -amylase(s)以外に β -amylase(s), debranching enzyme(s)および α -glucosidase(s)の協力作用も十分考えられる。

さて、Fig. 6は緑熟バナナが黄熟バナナになる追熟の過程における澱粉含量の変化を示している²⁸⁾。緑熟バナナ中湿重量で約20%含まれていた澱粉粒が、エチレンガス処理後1~4日で急速に減少し、5~6日では約2%

Fig. 6. Time courses of changes in contents of starch, glucose and soluble sugar in banana fruits(pulp).

Abscissa; days at about 20°C after treatment of green banana with ethylene gas (1,500 ppm, 20°C, 24 hr).

○—○, soluble sugar; ●—●, glucose; ▲—▲, starch.

以下となる。このような現象はすでに他の研究者らによって認められていたものであるが²⁹⁻³²⁾、異なった定量方法を用い追試確認したこととなる。事実、Fig. 6の0~6日の各段階のバナナを輪切にした切片をヨード・ヨードカリ液で染色すると、0日のものは果肉の大部分が青く着色するが、6日目のものでは果肉の外周部が僅かに呈色する程度である。Fig. 7は凍結乾燥したバナナ果肉切片のSEM観察である³³⁾。緑熟バナナでは(Fig. 7 a, b), 種々の形の澱粉粒がかなりつまっており、それらの表面は平滑である。追熟がすすむと、澱粉粒のつまり具合が少なくなり(Fig. 7 c, e), また表面に縞のある粒が観察される(Fig. 7 d, f)。

このように、バナナは*in vitro*で分解されにくい澱粉粒を効率よく分解する澱粉分解酵素系をもっており、しかもSEM観察からamylaseとくに α -amylaseの関与が推定される。しかし、バナナの澱粉分解酵素系については、phosphorylaseの関与を主張するもの^{29,30)}とamylaseの関与を主張するもの^{31,32)}とがあり、ちょうどジャガイモ塊茎の発芽の際の澱粉分解酵素系²⁵⁾と同様、なお不明の点が多く、今後の研究に待たねばならない。なお、ジャガイモ、コメ、オオムギの発芽の際の澱粉粒の分解については、中村の解説²⁵⁾を参照されたい。

以上に、澱粉粒の*in vivo*と*in vitro*における酵素分解の概要をのべた。これらの研究が、澱粉粒の消化性のちがいの解明、ひいては澱粉粒の構造解明へ少しでも近づく手掛りとなるとともに、澱粉粒あるいはそれらを含む種実と根茎の有効利用の基礎となることを念願しながら、研究を続けている。

本研究を遂行するに当り、研究費の一部は文部省科学研究助成金によった。また、研究に協力くださった多くの方々に深謝します。さらに、日頃、澱粉や酵素資料の入手をはじめ、種々ご援助をいただいているの方々に感謝します。

文 献

- 1) 中村道徳, 桐淵滋雄: アミラーゼシンポジウム, **9**, 11(1974).
- 2) 不破英次: アミラーゼシンポジウム, **9**, 23(1974).
- 3) 上田誠之助: 澱粉科学, **25**, 124(1978).
- 4) 溝上恭平, 小崎道雄, 北原寛雄: 澱粉科学, **25**, 132(1978).
- 5) 檜作 進, 竹田靖史, 松林卓哉: 澱粉科学, **26**, 112(1979).
- 6) 前田 巖, 自見信子, 谷口 肇, 中村道徳: 澱粉科学, **26**, 117(1979).

- 7) 不破英次: 澱粉科学, **24**, 128(1977).
- 8) H. FUWA, M. NAKAJIMA, A. HAMADA and D. V. GLOVER: *Cereal Chem.*, **54**, 230(1977).
- 9) 杉本温美, 高谷友久, 不破英次: 澱粉科学, **22**, 103(1975).
- 10) 杉本温美, 高谷友久, 不破英次: 澱粉科学, **23**, 42(1976).
- 11) H. FUWA, D. V. GLOVER, Y. SUGIMOTO and M. TANAKA: *Stärke*, **30**, 186(1978).
- 12) H. FUWA, D. V. GLOVER, Y. SUGIMOTO, R. NISHIMURA and M. TANAKA: *Stärke*, **30**, 367(1978).
- 13) H. FUWA, D. V. GLOVER, Y. SUGIMOTO and M. TANAKA: *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **24**, 437(1978).
- 14) T. TAKAYA, Y. SUGIMOTO, E. IMO, Y. TOMINAGA, N. NAKATANI and H. FUWA: *Stärke*, **30**, 289(1978).
- 15) H. FUWA, Y. SUGIMOTO, T. TAKAYA and Z. NIKUNI: *Carbohydr. Res.*, **70**, 233(1979).
- 16) 杉本温美, 藤田修三, 高谷友久, 不破英次: 第32回日本栄養・食糧学会総会一般講演要旨集, p. 39(1978).
- 17) 藤田修三, 高谷友久, 不破英次: 第33回日本栄養・食糧学会総会講演要旨集, p. 159(1979).
- 18) 多田 洋, 河合文雄: 栄養と食糧, **30**, 15(1977).
- 19) 高尾文子, 杉本温美, 不破英次: 澱粉科学, **25**, 12(1978).
- 20) H. FUWA, D. V. GLOVER and Y. SUGIMOTO: *J. Jap. Soc. Starch Soc.*, **24**, 99(1977).
- 21) 杉本温美, D. V. GLOVER, 不破英次: 日本農芸化学会昭和53年度大会講演要旨集, p. 147(1978).
- 22) H. FUWA, D. V. GLOVER, Y. SUGIMOTO, Y. IKAWA and T. TAKAYA: Abstracts, 5th International Congress of Food Sci. & Technol., p. 190(1978).
- 23) 遠藤慶子, 杉本温美, 高谷友久, 不破英次: 澱粉科学, **25**, 24(1978).
- 24) 杉本温美, 大西恵子, 高谷友久, 不破英次: 昭和53年度日本澱粉学会大会講演要旨, 澱粉科学, **25**, 215(1978); 澱粉科学, **26**, 印刷中.
- 25) 中村道徳: 化学と生物, **16**, 629(1978).
- 26) 春日井愛子: 農化, **36**, 784(1962); **37**, 761(1963).
- 27) Y. YAMASAKI and Y. SUZUKI: *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 481(1979).
- 28) 高谷友久, 岡積由美子, 杉本温美, 不破英次: 未発表データ.
- 29) S.F. YANG and H.K. HO: *J. Chinese Chem. Soc.*, **5**, 71(1958).
- 30) S. SINGH and G.G. SANWAL: *Phytochem.*, **14**, 113(1975); **15**, 1447(1976).
- 31) W. MAO: PhD Thesis, Cornell Univ. (1974).
- 32) P. SORNSRIVICHAI: PhD Thesis, Univ. of California(1976).
- 33) 杉本温美, 岡積由美子, 高谷友久, 不破英次: 未発表データ.

表データ.

【質問】

東大農 中村

- 1) バナナの澱粉の分解過程の写真を拝見していますとわれわれがバレイショの澱粉粒の分解過程で見出し, “段丘状”と表現した分解様式と似ているように思いますが, ご意見はいかがでしょうか.
- 2) トウモロコシの澱粉粒で, 小麦や大麦の澱粉粒にみられる“赤道面”の存在があるように思われる写真が2, 3ございましたが, トウモロコシ澱粉にも“赤道面”があると考えてよいのでしょうか?

【答】

- 1) われわれがバナナ澱粉粒の分解過程で表面の“縮状”構造といっているものと, 先生の“段丘状”のものとは, 非常によく似ていると思います. いずれも表面からはがれたときに, 作用されやすい部分とされにくい部分があることに原因していると考えられます.
- 2) トウモロコシ澱粉粒でも, たしかに作用されやすい部分があるようですが, コムギやオオムギの場合のようなきわだった“赤道面”的な部分がとくにあるとは考えにくいようです.

【質問】

鹿大農 檜作

- 1) 生澱粉の場合, トウモロコシの種類によって生澱粉の被消化性が異なりますが, 糊化すると, 相違が認められないとのこと, 時間を追って極限まで分解された結果があれば, お教えください.
- 2) 澱粉の被消化性と結晶型との間に何らかの相関関係が認められますか.

【答】

- 1) 試料の量が少ないものが大部分ですので, 行っておりません.
- 2) 一般にB図形を示すものは消化されにくいようですが, 必ずしも相関関係はないようです.

【質問】

大阪市大理 山本

Taka amylase その他 α -amylase を生澱粉粒に作用させた場合, 上澄液にどんな種類の糖がみられたでしょうか? ずいぶん古い私たちの実験で枯草菌液化型 α -amylase を生澱粉に作用させると glucose, maltose, maltotriose など主でそれ以上の大きさの maltooligo 糖や branched oligosaccharide の生成が非常に少なかったことを記憶しております. もしそうだとすると, α -amylase は何かかなり限定された部分のみを水解すると

思われます。

【答】

われわれは主としてかびの α -amylase の場合の検討をしていますが、作用させる澱粉粒の種類、反応条件(時間, pH, 温度)などで異なることはもちろんです。Taka の場合などはたしかに初期には G_1, G_2, G_3 が主ですが、反応の進行とともに大きなものも量は少ないですが生成するようです(文献 14 参照)。

【質問】

九大農 上田

in vitro より *in vivo* で生澱粉がアミラーゼにより

よく分解されることの原因について先生のご意見をうかがいたい。

【答】

先にも述べましたが、*in vitro* に比べ *in vivo* では強力な澱粉分解酵素系が集中的に澱粉粒に作用するのに加えて、たとえば rat 体内では澱粉粒の物理的損傷や胃酸と胆汁酸塩の協力効果などが挙げられると思います。また動物や植物体内で、澱粉粒によりよく作用する amylase(s) が適応的に生成されるようなことがあれば非常におもしろいのではないかと、目下検討中です。