ラット消化管におけるアミロメイズ 澱粉粒の消化過程

渡邊幸雄*・花岡彰宏*・森川陽一*・太田富貴雄*・綾野雄幸*

(昭和55年6月26日受理)

Digestive Process of Amylomaize Starch Granules in the Digestive Tract of Rats

Yukio WATANABE, Akihiro HANAOKA, Yōichi MORIKAWA,
Fukio OHTA and Yūkō AYANO

*Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Horticulture, Chiba University
(648 Matsudo, Matsudo-shi, Chiba 271, Japan)*

In order to clarify the mechanism of digestion of amylomaize starch granules by rats, some properties of the starch remaining in the digestive tract and the activities of starch-degrading enzyme in the intestine were examined by using the animals fed on the starch granules (amylose content 49.3%).

The starch granules were isolated from stomach, small intestine, cecum, large intestine and feces at various intervals after feeding. The elution patterns of the starches on a Sephadex G-50 column showed that low molecular weight components accumulated and increased gradually with progress of digestion. The iodine coloration of the starches decreased, and the $\lambda_{\max}$ of the starch-iodine complex shifted to a shorter wavelength during the same process. These findings as well as of the previous studies¹⁾ suggest that the amorphous parts of amylomaize starch granules were preferentially degraded in the rat intestine, and the crystalline parts in the granules accumulated in the residual starch.

The amylase activities in the intestine of rats fed on amylomaize starch granules were detected not only in the small intestine but in the cecum and large intestine, whereas the amylase activities in the intestine of the animals fed on normal corn starch were present mostly in the small intestine. It seems that amylomaize starch granules were digested through the whole intestine. The digestive capacity for amylomaize starch granules of the cecum contents tended to be larger than that of the small intestine contents, as compared on the same basis of amylase activity. These results suggest that the starch-degrading enzyme systems are different in these organs.

著者らは、前報¹⁾において、アミロメイズ澱粉粒（アミロース含量49.3%）を50%含む飼料を摂取させたラットの糞から未消化澱粉粒を回収し、その性質を調べた結果、回収澱粉はもとの澱粉と成分的に著しく異なることを報告した。すなわち、回収澱粉のブルナーゼ処理前後のセファデックス G-50 カラムの溶出パターンからみると、回収澱粉は void volume に溶出するアミロースをほとんど含まず、もとの澱粉にはみられなかった低分

子化した物質が50%ほど存在する。また、回収澱粉のX線回折像はもとの澱粉よりも鋭敏になっているのが観察された。同じころ、井川ら^{2,3)}は同種の澱粉粒に粗グルコアミラーゼ (*Rhizopus amagasakiensis*) を作用させ、85%以上分解したものについて性質を調べ、残存澱粉では長鎖のアミロースが減少し、低分子化した物質が蓄積されると報告している。Wolf ら⁴⁾はアミロメイズミール（澱粉のアミロース含量70.1%）およびそれらを混入して焙焼したマフィンをヒトならびにマウスに与えて澱粉の消化性を調べた。マフィンの場合、ヒトでは澱粉の

* 千葉大学園芸学部農芸化学科
(271 松戸市松戸 648)

88.3%が消化され、糞中に排泄された澱粉のアミロース含量は47%に低下したと報告している。

アミロメイズ澱粉粒以外の澱粉粒のアミラーゼによる分解に関して、Leach ら⁹⁾ はタピオカ、ソルガム、トウモロコシ、コムギおよびサゴの澱粉粒に細菌 α -アミラーゼを作用させ、残った澱粉粒の性質を検討し、残存澱粉のヨウ素親和力はもとの澱粉に比べ、ほとんど変わらないと報告している。福場ら⁶⁾ はトウモロコシ、コメ、パレイシヨおよびサツマイモの澱粉粒にグルコアミラーゼを作用させたのち、回収した澱粉粒のX線回折を行い、回折像はもとの澱粉粒とほとんど差は認められないと報告している。また、前田ら⁷⁾ はサルにパレイシヨを食べさせ、糞から回収した澱粉粒のX線回折像はもとの澱粉粒と変わらないという結果を得ている。

一方、福井ら⁸⁾ はコメ、パレイシヨおよびトウモロコシ澱粉粒に細菌 α -アミラーゼを作用させ、残存澱粉粒の性質を調べ、うちのコメ澱粉粒のみが酵素処理によってヨウ素親和力がもとの澱粉よりも増加したと報告している。これはもとの澱粉粒には認められなかった低分子の直鎖成分が増加したためであるが、X線回折像は酵素作用前後で変化がないことから、酵素は澱粉粒の結晶部分を非結晶部分と同様に分解するのであろうと述べている。澱粉粒がアミラーゼで分解される途中で粒中に低分子化した物質が蓄積される現象はコメ⁹⁾ およびオオムギ¹⁰⁾ の発芽の際の胚乳澱粉粒でも観察されている。以上のことから、アミロメイズ澱粉粒と他澱粉粒ではアミラーゼによる分解の様相がかなり異なると考えられる。アミロメイズ澱粉粒のアミラーゼ処理後に生じる不溶性の低分子化した物質は澱粉粒の消化されにくい部分であり、結晶部分とも関係が深いことが推察される。

アミロメイズ澱粉粒をラットに投与すると、消化管を6~7時間で通過するが、このときのみかけの消化率は70~80%である。この澱粉を試験管内で同程度まで分解しようとするとき多量のアミラーゼとかなりの時間を要する。*in vivo* と *in vitro* での分解率の大幅な相違はパレイシヨ澱粉粒の場合にも認められることで、動物体内では動物自身の消化酵素による効率の良い消化に加えて、盲腸以下では腸内細菌が澱粉粒の分解に関与していると考えられている^{6,7,11,12)}。そこで、今回はアミロメイズ澱粉粒がラット消化管で分解される様相を澱粉分子の変化の面から調べるとともに、消化管内容物中のアミラーゼの分布およびその生澱粉分解能について検討した。

実験方法

1. 試料澱粉

アミロメイズ澱粉（アミロース含量49.3%）および普通トウモロコシ澱粉を用いた。いずれも豊年製油株式会社より提供を受けた。

2. ラット消化管から澱粉粒の分離

ウィスター系の雄の幼ラットに Table 1 に示した Diet I を与え、体重が約 250 g になるまで予備飼育した。本実験ではタンパク質源としてカゼインの代りに Itoh ら¹³⁾ が示したアミノ酸混合物を用いた。これは消化管内容物から澱粉粒の分離を容易にするためである。

飼料投与法は、ラットを24時間絶食させたのち、Diet II を粉末の状態で15分間だけ与えた。水は自由に与えた。このときの摂食量は1匹当たり 2~3 g であった。なお、ラットは本実験に入る前に Diet I で訓練し、馴化させておいた。餌を与えた時点から1時間ごとに6回3匹ずつのラットを取り出して解剖して消化管を摘出し、胃、小腸、盲腸および大腸に区分けし、それぞれの内容物を取り出した。内容物および糞中の未消化澱粉粒の分離は前報¹²⁾ と同様である。

3. 消化管内容物中のアミラーゼ活性の測定

体重が約 60 g のウィスター系の雄ラットを Diet I で1週間予備飼育したのち、1群6匹ずつ2群に分け Diet III で5週間本実験を行った。なお、対照として普通トウモロコシ澱粉 (Diet IV) 投与群を用意した。ここで飼料の澱粉および脂肪の含量をそれぞれ50、10%とした

Table 1. Composition of the diets (%).

Components	Diet			
	I	II	III	IV
Normal corn starch	75	—	—	50
Amylomaize starch	—	78	50	—
Sucrose	—	—	20	20
Casein	15	—	15	15
Amino acid mixture ^a	—	15	—	—
Soybean oil	5	2	10	10
Salt mixture ^b	4	4	4	4
Vitamin mixture ^b	0.85	0.85	0.85	0.85
Choline chloride	0.15	0.15	0.15	0.15

Diet also contains, per 100g, 300 IU retinyl palmitate, 0.75 μ g Vitamin D₂ and 10 mg dl- α -tocopherol.

^a H. ITOH *et al.*: *J. Nutr.*, 103, 1709 (1973).

^b A. E. HARPER: *J. Nutr.*, 68, 405 (1955).

のは、下痢症状の軽減のためである。2および5週間後に解剖し小腸、盲腸および大腸を摘出し、内容物を蒸留水で洗い出し定容した。小腸は上部と下部とに2分して内容物を分離した。その一部をとり37℃で30分間インキュベートして酵素を溶出したのち、3000 rpm で10分間遠心分離し、その上澄を粗酵素液とした。アミラーゼ活性は1%可溶性澱粉 1 ml, pH 6.8 の 1/15 M リン酸緩衝液(0.03 M 塩化ナトリウムを含む) 1 ml に酵素液 1 ml を加え、37℃で3分間反応させたのち、Somogyi のヨウ素滴定法¹⁴⁾の銅試薬で反応を止め、生成した還元糖をグルコースとして定量して求めた。酵素単位は1分間に1 μ mole のグルコースに相当する還元糖を遊離する酵素量を1単位とした。

4. セファデックス G-50 カラムによるゲル濾過

試料澱粉 10mg を 0.5 N 水酸化ナトリウム 1 ml に溶解し、0.5 N 塩酸で pH 9 としたのち、その 1 ml をカラム (1.8×100 cm) に負荷し、蒸留水を用いて 30 ml/hr で溶出した。溶出液を 5 ml ずつ分取し、その 1 ml をフェノール・硫酸法¹⁵⁾で発色させ 490 nm における吸光度を測定した。得られた画分の β -アミラーゼ分解は前報¹²⁾と同様に行った。

5. ヨウ素吸収スペクトル

澱粉 4mg を 0.5 N 水酸化ナトリウムに溶解し塩酸で中和したのち、ヨウ素液 1 ml (I_2 2 mg, KI 20 mg を含む) を加えて 100 ml に定容後、1 cm のセルを用いて 400~750 nm までの吸収スペクトルを測定した。

6. 消化管内容物に含まれるアミラーゼの澱粉粒分解能

アミロメイズ澱粉粒 50mg を 50 ml 容共栓付試験管に精秤し、1/15 M リン酸緩衝液 (pH 6.8) 10 ml, 0.1 M 塩化ナトリウム 5 ml, 3 で調製した粗酵素液 40 単位、トルエン 2~3 滴を加え、蒸留水で 50 ml とし、ときどき攪拌して 37℃ でインキュベートした。経時的に試料を取り出し生成した還元糖をグルコースとして Somogyi のヨウ素滴定法¹⁴⁾で定量し、フェノール・硫酸法¹⁵⁾で求めた全炭水化物量に対する百分率から分解率を算出した。

実験結果

1. 消化管および糞から回収した澱粉粒の性質

アミロメイズ澱粉粒を摂取したラットの消化管における残存澱粉粒の経時的变化は前報¹²⁾に示した。今回、各消化管および糞から回収した澱粉粒を溶解し、セファデックス G-50 カラムでゲル濾過を行った結果を Fig. 1 に示す。餌として用いた澱粉 (対照) は 97.3% が void

Fig. 1. Elution patterns on a Sephadex G-50 column of amylo maize starch recovered from digestive tract of rats at various intervals after feeding.

Carbohydrate concentration was determined by the phenol-sulfuric acid method.

1. control; 2. stomach, 2 hr; 3. 4. 5. small intestine, 1, 2 and 4 hr, respectively; 6. 7. cecum, 4 and 6 hr, respectively; 8. feces.

volume に溶出した。胃から回収した澱粉は摂食 2 時間後でも対照と差は認められなかった。摂食 1 時間後に小腸から回収した澱粉にはすでに低分子化した物質が蓄積しており、その量は約 14% にも達していた。前報¹²⁾で、*in vitro* でラット小腸抽出酵素でアミロメイズ澱粉粒を約 30% 分解したのちの残渣澱粉には低分子量区分が存在しないことを報告した。これらのことから推定すると、摂食後 1 時間以内に澱粉は 30% 以上の分解を受けたと考えられる。小腸における澱粉の分解は時間の経過とともにさらに進み、低分子化した成分は摂食 4 時間後で約 21% まで達した。盲腸から回収した澱粉の低分子量成分はさらに増加しており、摂食 6 時間後のもので約 40% を占めていた。糞から回収した澱粉の低分子量成分の割合が 42.7% であることから、消化管での澱粉粒の分解は約 6 時間でほぼ終了すると考えられる。このように、小腸から回収した澱粉と盲腸からのものでは澱粉粒に蓄積し

Fig. 2. Iodine absorption spectra of amylo maize starch recovered from digestive tract of rats.

The reaction mixture contained 2 mg of I_2 , 20 mg of KI and 4 mg of starch in 100 ml.

The numbers are the same as those in Fig. 1.

た低分子量成分の割合が著しく異なっていることから、摂取した澱粉粒のかかなりの量が盲腸内で分解されていると考えられる。

Fig. 2 に回収澱粉のヨウ素吸収スペクトルを示す。胃から回収した澱粉を除いて、回収澱粉の図形は摂食後の時間の経過とともに、最大吸収波長は短波長側に移行し、また小腸から回収した澱粉よりも盲腸から回収したもののほうが吸収強度は低下し、同じく最大吸収波長はより短波長側に移行した。対照澱粉をアルカリに溶解して中和したのち、Schoch のブタノール分別法¹⁶⁾で分離したアミロペクチンの図形は、摂食 2 時間後と 4 時間後に小腸から回収した澱粉の図形の中間に位置することから、摂食後 4 時間以内にもとの澱粉粒にあった大部分のアミロースは分解されて消失し、さらにアミロペクチンも外部鎖が短くなりヨウ素の吸収量が低下したと考えられる。

量的に多く採取され、分解が最も進んでいる糞から回収した澱粉について、さらに性質の検討を行った。Fig. 3 は、Fig. 1 に示したセファデックス G-50 カラムによるゲル透過で void volume に溶出した部分 (Fr. I) と低分子量画分 (Fr. II) のヨウ素吸収スペクトルを示す。前報¹⁾で Fr. I はアミロースをほとんど含まないことを報告したが、Fr. I の図形はアミロペクチンの図形に比し、吸収強度が弱く、アミロペクチンもアミロースと同じように分解されていると考えられた。しかし、この画分の β -アミラーゼ分解限度は対照の 64.5%に

Fig. 3. Iodine absorption spectra of fractions I and II or amylo maize starch recovered from feces.

Fractions were separated on a Sephadex G-50 column (Fig. 1). The reaction mixture contained 2 mg of I_2 , 20 mg of KI and 4 mg of carbohydrate in 100 ml.

1. control (tube No. 20); 2. amylopectin isolated from the amylo maize starch; 3. fraction I (tube No. 20); 4. fraction II (tube No. 31).

対し、76.6%とかなり高い値を示した。Fr. II はアミロペクチン由来の澱粉粒の結晶部分と関係が深いと思われるが、吸収強度はさらに弱く、最大吸収波長は 540 nm であった。また、 β -アミラーゼ分解限度は 87.3%と高く、直鎖成分の多い構造をもっていると考えられる。

2. 消化管内容物中のアミラーゼの分布および生澱粉分解能

ラット消化管内でのアミロメイズ澱粉粒の分解に盲腸が果たしている役割が大きいと考えられたので、消化管内容物に含まれるアミラーゼ活性を測定した。その結果を Table 2 に示す。普通トウモロコシ澱粉を対照としたが、この澱粉投与群ではアミラーゼ活性は大部分が小腸に分布し、盲腸および大腸では非常に少なかった。アミロメイズ澱粉投与群では、対照に比べて小腸での総活性は低下していたが、盲腸および大腸での活性は約 10 倍に増加していた。さらに長期間アミロメイズ澱粉を投与された群では、各部のアミラーゼ活性は増加するが、とくに盲腸で著しいことが認められた。以上のことから、ラット消化管内におけるアミロメイズ澱粉粒の分解は盲腸および大腸を含めた腸管全体で行われているものと考えられる。

盲腸内のアミラーゼが小腸のものと差異があるかどうかを生澱粉の分解能から調べた。その結果を Table 3 に示す。小腸では上部より下部のほうが、さらに盲腸の

Table 2. Activity of starch-degrading enzymes in the intestinal content of rats fed on amylomaize starch granules.

Group	Enzyme activity (units)			
	Small intestine		Cecum	Large intestine
	Upper	Lower		
Normal corn starch	300±85	850±370	15±15	4.3±1.0
For 2 weeks				
Amylomaize starch	410±210	370±110 ^a	160±120 ^a	51±39 ^a
For 5 weeks				
	650±310 ^a	740±220 ^b	660±490 ^b	180±200

* Mean±standard deviation.

^a Significantly different from that of the group fed on normal corn starch ($p<0.05$).

^b Significantly different from that of the group fed on amylomaize starch for 2 weeks ($p<0.05$).

Activity units were expressed as the amount of enzyme which liberates one μ mole of reducing group as glucose per min, at 37°C.

Table 3. Digestion of amylomaize starch granules with the intestinal contents.

Source		Digestion (%)			
		Duration (hr)			
		1	3	5	24
Small intestine	Upper	2.7	8.3	15.0	28.0
	Lower	3.2	10.3	16.0	29.4
Cecum		3.9	11.9	17.6	33.6

Each organ was separated from rats fed on the diet containing amylomaize starch granules for 5 weeks.

The reaction mixture contained 50 mg of starch, the intestinal contents containing 40 units of amylase, 5 ml of 0.1M NaCl and 10 ml of 1/15M phosphate buffer (pH 6.8) in 50 ml.

The reaction was carried out at 37°C with occasional shaking.

ほうがより同一アミラーゼ活性当りの生澱粉分解能が強い傾向を示した。これは小腸と盲腸では澱粉粒の分解に関与する酵素系が異なることを示唆するものと思われる。

考 察

アミロメイズ澱粉粒をラットに投与すると、消化管を通過する6～7時間の間に摂取した澱粉の70～80%が消化される。その際、澱粉粒は非結晶部分が優先的に分解され、結晶部分は低分子量成分として残るような分解を

受ける¹⁾。この種の澱粉は *in vitro* でも *in vivo* と同様な分解様相を示すことが井川ら^{2,3)} により報告されている。そこで、ラット消化管におけるアミロメイズ澱粉粒の分解様相を知る目的で、アミロメイズ澱粉粒を含む飼料を15分間投与したのち、経時的に解剖して消化管内容物から澱粉粒を回収し、その性質を検討した。摂食2時間後に胃から回収した澱粉はゲル透過パターン、ヨウ素吸収スペクトルとも対照と差は認められなかった。胃から回収した澱粉粒の走査型電子顕微鏡では、少数ながら表面に浸食を受けた粒が観察されたが¹²⁾、唾液アミラーゼや胃酸による構成成分の変化はきわめて少ないものと考えられる。小腸から回収した澱粉のゲル透過パターンは低分子化した成分を含み、対照のそれとはかなり異なっていた。低分子量成分の割合は摂食1時間後に回収したもので約14%、4時間後で約21%にも達した。低分子量成分の蓄積量が増加するにつれて、ヨウ素吸収スペクトルの吸収強度は減少し、最大吸収波長は短波長側に移行するのが観察された。盲腸から回収した澱粉の低分子量成分の割合はさらに高まり、摂食6時間後のものでは約43%であった。さらに糞から回収した澱粉のゲル透過で void volume に溶出する画分は大部分アミロベクチンであるが、Fig. 3に示すように対照から分離したアミロベクチンのヨウ素吸収強度よりかなり低いことから、アミロベクチンもアミロースと同様に分解されていると考えられる。また低分子量成分の画分である Fr. II は β -アミラーゼ分解限度が87.3%と高く、赤紫色のヨウ素

呈色を示し最大吸収波長が 540 nm 付近であることなどから、この画分はわずかに枝分れ結合を含み、アミロペクチン由来のものと考えられる。

澱粉粒がアミラーゼで分解される際、残存澱粉粒の X 線回折像がもとの澱粉粒よりも鋭敏になるのは、アミロメイズ澱粉の場合にのみ報告されているが^{11,13)}、これは粒構造が他の澱粉とはかなり異なることを示唆するものであろう。そして、このような現象が起こる原因として、アミロースならびにアミロペクチンの枝分れ結合に近いところは結晶部分を作らないので酵素作用を受けやすいと考えると、消化管を通る間にこのような部分は優先的に分解される可能性が大きい。結晶部分はアミロペクチンの外部鎖が密に集まった部分と考えられているから^{17,18)}、全体として低分子量の直鎖に近い成分が蓄積してることが理解できる。

動物の消化管で澱粉の分解に関与する酵素は主として膵臓の α -アミラーゼであるが、小腸と盲腸から回収した澱粉の低分子量成分量に著しい差が認められた。これは盲腸内でも澱粉粒の分解が行われていることを示しているものと考えられる。このことを裏付けるように、フロミメイズ澱粉粒を摂取したラットでは盲腸および大腸を含めた腸管全体にアミラーゼが分布しており、とくに盲腸内の活性が著しく高まっていた。盲腸内のアミラーゼは澱粉粒とともに小腸から流入したものが大部分と考えられるが腸内細菌の関与も予想されたので、小腸と盲腸の酵素を使用して同一アミラーゼ活性当りの澱粉粒の分解能を調べたところ、前者よりも後者のものが強い傾向を示した。現在、盲腸アミラーゼについてさらに検討中である。

バレインショヤアミロメイズ澱粉のような難消化性澱粉粒を摂取したラットでは消化管の増大が認められ、とくに盲腸では著しいことが観察されている^{11,19)}。これは難消化性のものを長く体内に保留し消化吸収を高めるための適応現象と考えられているが、これに加えて、アミラーゼの腸管全体への分布も同様の効果を与えているものと考えられる。

要 約

アミロメイズ澱粉粒をラットに投与し、消化管および糞から未消化澱粉粒を回収した。回収澱粉のセフデックス G-50 カラムによる溶出パターンから、澱粉粒が小腸から盲腸へと移動するにつれて低分子化した成分の蓄積量が増加することが認められた。また、ヨウ素吸収スペクトルから澱粉粒の移動につれてヨウ素の吸収量が減

少し、最大吸収波長は短波長側に大きく移行するのが観察された。これらのことおよび前報^{11,12)}の結果からすると、アミロメイズ澱粉粒はラット消化管で、粒の非結晶部分が優先的に分解され、結晶部分である低分子量成分が残るような分解を受けていることが示唆される。

消化管内容物に含まれるアミラーゼ活性を測定したところ、普通トウモロコシ澱粉を投与したラットでは、アミラーゼ活性は大部分小腸に分布し、盲腸および大腸では非常に少ないのに対して、アミロメイズ澱粉投与群では小腸での活性が低下し、盲腸および大腸での活性は約 10 倍に増大していた。ラット消化管内でのアミロメイズ澱粉粒の分解は盲腸および大腸を含む腸全体で行われているものと考えられる。また、小腸と盲腸の内容物を用いて、一定アミラーゼ活性当りの生澱粉分解能を調べたところ、盲腸のほうが小腸よりも強い傾向を示した。このことは両者における澱粉分解酵素系が異なることを示すものと考えられる。

本実験を行うにあたり、試料澱粉を提供くださった豊年製油株式会社に深謝します。

文 献

- 1) Y. WATANABE, F. OHTA and Y. AYANO: *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 2625(1979).
- 2) 井川佳子, D. V. GLOVER, 杉本温美, 高谷友久, 不破英次: 昭和54年度日本澱粉学会大会講演要旨集, p. 8(1979); *Stärke*, **32**(12), in press.
- 3) 井川佳子, 不破英次, 杉本温美: 昭和55年度日本農芸化学学会大会講演要旨集, p. 255(1980); Y. IKAWA and H. FUWA: *Stärke*, **32**, 145(1980).
- 4) M. J. WOLF, U. KHOO and G. E. INGLET: *Stärke*, **29**, 401(1977).
- 5) H. W. LEACH and T. J. SCHOCH: *Cereal Chem.*, **38**, 34(1961).
- 6) 福場博保, 毛利仁美: 澱粉科学, **23**, 26(1976).
- 7) 前田 巖, 洞淵滋雄, 永井康豊, 本間浩之, 中村道徳: 澱粉科学, **23**, 35(1976).
- 8) 福井俊郎, 藤井ミチ子, 二國二郎: 農化, **38**, 262(1964).
- 9) F. FUKUI and Z. NIKUNI: *J. Biochem.*, **43**, 33(1956).
- 10) 洞淵滋雄, 中村道徳: 農化, **47**, 341(1973).
- 11) 杉本温美, 高谷友久, 不破英次: 澱粉科学, **23**, 42(1976).
- 12) 綾野雄幸, 太田富貴雄, 渡邊幸雄, 協田修平: 澱粉科学, **26**, 165(1979).
- 13) H. ITOH, T. KISHI and I. CHIBATA: *J. Nutr.*, **103**, 1709(1973).
- 14) M. SOMOGYI: *J. Biol. Chem.*, **195**, 19(1952).

-
- 15) M. DUBOIS, K. A. GILLES, J. K. HAMILTON, P. A. REBERS and F. SMITH: *Anal. Chem.*, **28**, 350(1956).
- 16) 小林恒夫: 「デンプンハンドブック」, 二國二郎編, 朝倉書店, p.202(1961).
- 17) K. KAINUMA and D. FRENCH: *Biopolymers*, **10**, 1673(1971).
- 18) J. P. ROBIN, C. MERCIER, R. CHARBONNIERE and A. GUILBOT: *Cereal Chem.*, **51**, 389(1974).
- 19) 綾野雄幸, 古橋樹雄, 渡邊幸雄, 鈴木 徹, 高居百合子, 岩尾裕之: 栄養と食糧, **30**, 113(1977).