考えて原点にそのまま残ると考えられる。このことから粳米澱粉のペーパークロマトグラムで、原点と展開前線とのほぼ中央に出現する青色のスポットは澱粉のアミロースによるものであって、原点に残る赤紫色のスポットは僅かばかりのアミロースを周辺にリング状に伴うアミロペクチンによるものと考えられる。かくて 1 N KOH 溶液を展開剤とするペーパークロマトグラフィーで、澱粉のアミロース、アミロペクチンを分けることが出来ると考えられる。

IV. 要 約

KOH 溶液を展開剤とする澱粉のペーパークロマトグラフィーを試みて、次の方法を設定した。即ち 15% KOH 溶液で流下洗滌法で前処理した濾紙ストリップに澱粉溶液 (0.5 N KOH) をつけて、風乾後、1 N KOH 溶液で展開する。展開後、ストリップを乾燥することなく 10% 醋酸溶液に浸漬して中和後、沃素アルコール溶液に浸漬し呈色させる。この方法で澱粉のアミロース区分は原点から移動し、アミロペクチン区分は原点に残って澱粉は両区分に分けられることを認めた。

種々御指導を頂いている大阪大学産業科学研究所二国教授に深謝する。甘藷澱粉のアミロースを恵与された滋賀県立農業短期大学馬場助教授に深謝する。

(本報告の要旨は 1952 年 10 月 11 日、岐阜大学農学部における第 4 回中部地区農林学会で発表した。)

(1) E. Pacsu, J. W. Mullen : <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 63, 1168 (1941).	12 (1944).
(2) 佐藤 静一 : 米澱粉に関する研究, 大雅堂,	(3) T. J. Schoch : <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 64, 2954 (1942).

澱粉のクロマトグラフィーに関する研究 (第 2 報)*

澱粉のペーパークロマトグラフィーの定量化

滝 基 次 (三重大学農学部)

昭和 33 年 7 月 7 日 受 理

I. 緒 言

前報⁽¹⁾にて展開剤として 1 N KOH 溶液を使用する澱粉のペーパークロマトグラフィーによって、アミロース区分は原点から移動し、アミロペクチン区分は原点にとどまることを知った。よって澱粉のペーパークロマトグラフィーを下降法で行って、アミロース区分をストリップから流出させて捕集して、澱粉のアミロース含量の定量を試みたので其の結果を報告する。

II. 実 験 の 部

1. 供試澱粉, アミロース, アミロペクチン

- (1) 市販粳米澱粉, 市販糯米澱粉: 前報⁽¹⁾と同じ。
- (2) 馬鈴薯澱粉: 局方馬鈴薯澱粉を再沈澱して精製し, 減圧乾燥 (70°) する。
- (3) アミロース: 粳米澱粉, 馬鈴薯澱粉から二国等の沈澱剤-酵素法⁽²⁾によって分離し, 減圧乾燥 (70°) する。
- (4) アミロペクチン: 糯米澱粉から二国等の方法⁽³⁾によって分離し, 減圧乾燥 (70°) する。

2. 濾紙ストリップ 前報⁽¹⁾と同じ。大きさは 2×15 cm で第 1 図の様に A, B の 2 本の線を鉛筆でかるくかく。

3. 澱粉溶液の調製 前報⁽¹⁾と同様にして澱粉の 10 mg/ml 溶液 (0.5 N KOH) を調製する。

4. クロマトグラムよりアミロースの流下捕集 澱粉溶液の 0.05 ml (澱粉 0.5 mg) をマイクロピペット (全容 0.1 ml で最小目盛 0.001 ml) で、濾紙ストリップの原線 B を中心

第 1 図 定量用
濾紙ストリップ

* Studies on the Chromatography of Starches. Part II. Quantitative Paper Chromatography of Starches.

By Motoji TAKI (Faculty of Agriculture, Mie University)

として約 2cm の巾にバンド状につける。ストリップは風乾することなく直ちに A の所で折りまげて展開剤容器にかけて、下端を 5 ml, 10 ml の標線を有する小試験管 (水を 3 ml 入れておく) に達せしめておく。次いで 0.8 N KOH 溶液で下降法によって展開する。アミロース区分は原帯 (澱粉溶液をつけた場所) から流下するが、アミロペクチン区分は原帯にとどまる。更に展開を続けて流出するアミロース溶液を捕集し、5 ml の標線までにする。捕集したアミロース溶液に 50% 醋酸溶液の 0.5 ml を加えよく混合し、0.1% I_2 -1% KI 溶液の 0.5 ml を加え、水で 10 ml としてフィルター S 61 (波長 610 m μ) で吸光度を測定する。 I_2 -KI 溶液の 0.5 ml に水を加えて 10 ml として対照液とする。液層は 1 cm (光電比色計: 伊藤超短波標準型)。

5. 澱粉のアミロース含量 アミロースの 1~5 mg/ml 溶液の 0.05 ml について、澱粉の場合と同様に流下捕集したアミロースの沃素呈色液の吸光度を測定し、アミロースの検量曲線を得る。これを基準として澱粉のクロマトグラムより流下捕集したアミロース区分の沃素呈色液の吸光度からアミロース量を求める。

III. 実験結果及び考察

1. 粳米澱粉, アミロース, アミロペクチンのクロマトグラム 粳米澱粉の 10 mg/ml, アミロースの 2 mg/ml, アミロペクチンの 10 mg/ml 溶液の 0.05 ml を濾紙ストリップ (第 2 図-1) につけて風乾する。1 N KOH 溶液で下降法によって展開を下端まで行ったクロマトグラムを第 2 図に示した。呈色方法は前報⁽¹⁾と同じ。澱粉の場合は原帯にアミロペクチン区分を残して赤紫色に呈色し、これに続いて極めて僅か流下が見られ赤色を示すが途中で保留され、アミロース区分は流下して不規則な青色のバンドを形成し、その下端の部分は僅かに赤紫色であった。アミロースの場合は原帯は極めて淡く青色を示すのみで、流下して不規則な青色のバンドを形成し少しく原帯との間に tailing した。アミロペクチンの場合は原帯は赤色を示してこれに続いて僅かな流下があるが途中で保留され、極めて僅かな赤紫色の流下物が澱粉のアミロース区分に相当する場所に見られた。何れの場合も流下を続けるとアミロース区分はストリップから流出し、アミロペクチン区分は原帯に残った。

2. 展開剤 KOH 溶液の濃度 粳米澱粉アミロースの 4 mg/ml 溶液の 0.05 ml を定量用濾紙ストリップにつけて、一方は風乾し、他方は風乾しないで湿ったまま 0.1~1.0 N KOH 溶液で流下させ捕集した 2 ml 中のアミロースの沃素呈色液の吸光度を第 3 図に示した。アミロースの回収は KOH 溶液の濃度が 0.6 N までは濃度が高くなるにつれて大きくなるが、それ以上の濃度では一定となる。原帯を湿ったまままで展開する場合は、原帯を風乾して展開する場合に比較して回収はやや大きい。よって以下の実験では試料溶液をストリップにつけて、湿ったままで、0.8 N KOH 溶液で展開することにした。

3. クロマトグラムよりの流出量 粳米澱粉の 10 mg/ml 溶液の 0.05 ml について、流出量がそれぞれ 1 ml, 2 ml を得るまで展開してストリップを呈色させた所、アミロース区分は何れの場合も流出されて青色のバンドは見られなかった。アミロペクチン区分は流出量が 1 ml の場合にはそのまま原帯に残ったが、2 ml の場合には少しく流下が認められたがストリップの途中で保留された。又粳米澱粉アミロースの 4 mg/ml 溶液の 0.05 ml について、流出量をそれぞれ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ml 得て、その沃素呈色液の吸光度を測定した所、流出量が 1.0 ml 以上ではほぼ一定であった。よってクロマトグラムからの流出量は 2 ml とした。

第 2 図 澱粉のペーパークロマトグラム (下降法)

1. 濾紙ストリップ
2. 粳米澱粉 0.5 mg
3. 粳米澱粉アミロース 0.1 mg
4. 粳米澱粉アミロペクチン 0.5 mg

第 3 図 各濃度 KOH 溶液の展開によるクロマトグラムよりアミロースの回収

1. 原帯湿ったまま展開
2. 原帯風乾後展開

第4図 馬鈴薯澱粉アミロースのクロマトグラムよりの回収

1. 対照 2. 回収アミロース

第1表 アミロースの回収率

供試アミロース (mg)	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	平均
馬鈴薯澱粉のアミロース(%)	78	81	76	80	85	80
粳米澱粉のアミロース(%)	79	80	75	82	81	79

第2表 澱粉のアミロース含量

澱粉	馬鈴薯	市販粳米	粳米(水稲, 愛知旭)
流下捕集したアミロースの沃素呈色度	0.200	0.157	0.167
アミロース (%)	23	19	20

ストリップに澱粉の 10 mg/ml 溶液 (0.5 N KOH) の 0.05 ml をつけて、風乾せず湿ったまま 0.8 N KOH 溶液で展開し、アミロース区分を流下捕集し、醋酸酸性にし、沃素で呈色させて S 61 における吸光度を測定する。別に求めたアミロースの検量曲線を基準にして、澱粉のアミロース含量を求める。この方法で馬鈴薯澱粉、米澱粉のアミロース含量を求めた。

種々御指導を頂いている大阪大学産業科学研究所二国二郎教授に深謝する。

本報告の要旨は 1953 年 4 月 7 日、日本農芸化学会大会で発表した。

(1) 滝 基次：本誌, 33, 216 (1959)。

(2) 高岡研一、二国二郎：本誌, 26, 218 (1952)。

流出量 (ml)	0.5	1.0	1.5	2.0
吸光度	0.313	0.336	0.347	0.350

4. アミロースのクロマトグラムよりの回収率

馬鈴薯澱粉アミロースの 1, 2, 3, 4, 5 mg/ml 溶液の 0.05 ml について流下捕集したアミロースの沃素呈色液の吸光度を第4図に示した。別に上記の各アミロース量を含む水溶液に 0.8 N KOH 溶液の 2 ml と 50% 醋酸溶液の 0.5 ml を添加した場合の沃素呈色液の吸光度を測定して対照とした。アミロースのクロマトグラムよりの回収率を求めて第1表に示した。粳米澱粉アミロースについても同様に実験し回収率を求めた。

以上の諸実験の結果から 0.8 N KOH 溶液を展開剤として、下降法によるペーパークロマトグラフィーによって、アミロペクチン区分を原帯にとどめて、アミロース区分のみを流下させて、その沃素呈色度より澱粉のアミロース含量を求めることが可能であると考えられる。

5. 澱粉のアミロース含量 馬鈴薯澱粉、粳米澱粉の 10 mg/ml 溶液の 0.05 ml について、II の方法でアミロース区分を流下捕集し、沃素で呈色させて吸光度を測定した。それぞれの澱粉のアミロースのクロマトグラムよりの回収実験によって求めた検量曲線を基準として、澱粉のアミロース含量を算出した。

IV. 要 約

KOH 溶液を展開剤とする下降法による澱粉のペーパークロマトグラフィーの定量化を試みて次の方法を設定した。即ち 15% KOH 溶液で流下洗滌した濾紙

(3) 二国二郎、高岡研一、不破英次：本誌, 25, 71 (1951)。