[農化 第 43 卷, 第 3 号, p.177~182, 1969]

アミロデキストリンの結晶化に及ぼす植物抽出液の影響

鈴木綾子, 檜作 進*, 二国二郎**

(大阪女子大学, *鹿児島大学農学部, **大阪大学産業科学研究所)

昭和 43 年 9 月 14 日 受 理

The Effect of Plant Tissue Extracts on the Recrystallization of an Amylodextrin

By Ayako SUZUKI, Susumu HIZUKURI*, Ziro NIKUNI**

Osaka Women University; * Faculty of Agriculture, Kagoshima University;

**Institute of Scientific Industrial Ind. Research, Osaka University

An amylodextrin specimen (DP. 14.5), which was separated from a commercial dextrin syrup, was recrystallized from clear aqueous extracts of various plant tissues—potato, sweet potato, pea, broad bean, corn, chestnut, lotus tuber, cabbage leaf and wheat flour.

Under the same concentration and temperature, the type of X-ray diffraction patterns of all these recrystallized specimens shifted to A type side to some different extents from C_B type of the standard specimen, which was recrystallized from distilled water, even when the concentration correction was made corresponding to the solid substances of the tissue extracts.

The yield of these recrystallized amylodextrin from the plant tissue extracts was more than twice than that of the standard.

It is concluded that all plant tissues examined may contain a substance or substances, which shift the X-ray diffraction pattern to A type side and accelerate the precipitation of the amylodextrin.

(Received September 14, 1968)

はじめに

デンプン粒は、植物の種類により A, B および中間の C 形に区別されるいずれかの結晶構造をもつことが知られている。著者らはこれまでに、デンプン粒の結晶構造がその植物の環境温度に依存することを種々の植物について証明してきた。しかし、この温度の影響は植物の種類によって特徴があり、同一温度でも同一の結晶形を与えるのではない。たとえば、20°C の場合ジャガイモでは B 形、発芽大豆では C 形、米では A 形の結晶形のデンプンが得られる⁽¹⁻⁴⁾。

この相違の原因の一つが、細胞液の組成の相違に基づくものではないかと考えて、次のような実験をおこなった。すなわち、アミロデキストリンの一定量に種々の植物組織の抽出液の一定量を加え、一定温度で結晶化し、その結晶形を X 線ディフラクトメーターで調べた。その結果、対照として抽出液の代わりに水を用いた場合、C_B

形の結晶形のものが得られたが、植物抽出液を用いると、いずれの場合も結晶形が水の場合よりも A 形の変化することが認められた。また再結の際のアミロデキストリンの収量は、水の場合に比べ植物抽出液を用いた方が 2 倍、あるいはそれ以上となる。

実験方法

1. 試料のアミロデキストリンの調製と性質：約 10 年前、酒の三倍醸造用として製造された松谷化学工業株式会社製デキストリン（商品名 MLD）は、水分約 20%、糖の平均重合度約 4.2 のシラップである⁽⁵⁾。これを放置すると白濁を生ずる。著者らは約 8 年間二国研究室に保管した前記 MLD 約 15 l を既報に準じて⁽⁵⁾処理して白濁物質であるアミロデキストリンを集めた。すなわち、この白濁したシラップに 4 倍量の冷水を加えて攪拌し、白濁物質を遠心分離した。得られた白色沈殿をさらに数回、遠心分離法で冷水を用いて洗浄した。次いで 99%

アルコールで脱水後、エーテルで洗い、塩化カルシウムデシケーター中で乾燥した。

このようにして得られた粉末試料を濃度 40% 程度に温水中に溶解し、活性炭を加え遠心分離し、濾過後濾液に同量の 99% アルコールを加え、室温 (20°C) に 3 時間静置後、冷蔵庫中 (5°C) に 7 日間おいた。できた白色沈殿物を 85% アルコールで洗浄し、99% アルコールで脱水後、ガラスフィルターで濾過し、最後にエーテルで洗浄後塩化カルシウムデシケーター中で乾燥した。水分は 15.7% であった。分析の結果、このものは平均重合度 14.5 のアミロデキストリンで、 β -アミラーゼによる分解限度は 78% であった。前報⁽⁵⁾では β -アミラーゼ分解限度を 100% と報告したが、前回使用した β -アミラーゼに微量の α -アミラーゼが混在していたための誤りと思われる。数回にわたる分解実験と、竹田靖史 (鹿児島大学) がサツマイモから純化した結晶 β -アミラーゼによる本実験の結果とから、ここに訂正する。

重合度は全糖量を Anthron 法で、還元糖は Somogyi-Nelson 法⁽⁶⁾ (ただし、銅試薬と 30 分加熱した) で測定して算出した。いずれも、グルコースを標準とした。

β -アミラーゼによる分解限度の測定は、試料 4.5 mg を含む酢酸緩衝液 (pH 4.8) 1 ml にサツマイモの結晶 β -アミラーゼ 1.2 mg を含む上と同じ酢酸緩衝液 1 ml を加えて、トルエン添加の下に 37°C で行なった。分解は 1 時間以内に極限に達し、以後 6 時間にわたって一定であった。還元力は Somogyi-Nelson 法で測定し、結果はマルトースへの分解率として算出した。

2. 植物抽出液の調製法: 植物の種類は、ジャガイモ、サツマイモ (高系 14 号, ゴコク, コナセンガン, タマユタカ), エンドウ, ソラマメ, トウモロコシ, クリ, レンコン, キャベツ, 小麦である。サツマイモの各種は三重大学農学部付属農場産のものを、その他は市販のものをを用いた。小麦としては市販小麦粉を材料とした。

抽出方法は、試料を等重量の水とともに、ミキサーで 1 分間処理して得た汁液を二重のガーゼを通して搾汁し組織片を除いた。この搾汁液を 10,000 rpm で 10 分間遠心分離してデンプンを含む不溶物を除いた上澄液を、沸とう水中で 3 分間熱処理してデンプン分解酵素などを不活性化した。このとき生じた不溶物を 10,000 rpm で 10 分間遠心分離して除去したものを抽出液として使用した。

この植物抽出液について、乾物量, pH, 蛋白質量を測

定した。蛋白質量は、便宜的に牛血清アルブミンを標準として、Lowry 法⁽⁷⁾により比較定量した。

3. アミロデキストリンの結晶化: アミロデキストリン (水分含量 15.7% のままの重量) 850 mg に植物抽出液を 1.25 ml 加え、よく振とうし、沸とう水中で 90 秒加熱して完全に溶解後、12°C に急冷し同じ温度のフラスコ中で 48 時間結晶化した。結晶温度を 12°C とした理由は、アミロデキストリンの結晶形は結晶化のときの濃度と温度に完全に依存することが明らかである⁽⁸⁾ので予備実験を行ない、前記の濃度で結晶形の変化を認めやすい温度条件を検討し、12°C と定めたのである。できた沈殿をガラスフィルターで濾過し、冷水で洗浄後 98% エチルアルコールで脱水、さらにエーテルで洗浄し乾燥した。

4. X線ディフラクトメーターの操作条件: 理学電機製 X 線回折装置を用い、対陰極 Cu, 発生条件は、電圧 35 kVP, 電流 12.5 mA で発生 X 線はニッケル箔を用いて K β 線を除去した。Ratemeter は、scale factor 16, multiplier I, time constant 2 秒とした。スリット系は、発散スリット 1°, 受光スリット 0.15, 制限スリット 1° のものを採用した。G-M 管の走査速度は、1°/分、紙速度は、1 cm/分とした。

実験結果

結晶化に用いた植物抽出液の組成は第 1 表にあげる。

蛋白質量はマメ類はやや多いが他は約 0.2% ぐらいであり、乾物量は、小麦、クリは多いが、他は約 3% 前後である。pH は植物の種類で多少異なるが大差はなかった。

これらの植物抽出液を用いて結晶化したとき、対照として水を用いると C_B 形の結晶形のものが得られるが、植物抽出液を用いると、ジャガイモ、レンコン、キャベツは C_O 形の結晶が得られ、エンドウ、ソラマメ、トウモロコシ、クリ、小麦は、C_A 形のものが得られた。これら各種の X 図形のうち、その代表的なもの 3 種だけを第 1 図に示す。すなわちいずれの場合でも、溶剤として水を用いるよりも植物抽出液を用いた方がアミロデキストリンの結晶図形を C_O 形をへて C_A 形の方に押しやっている。サツマイモ抽出液のように、この程度が品種によって異なるものもある。ゴコク、コナセンガン、タマユタカは C_A 形の結晶形だが、高系 14 号は C_O 形の結晶形であった (第 2 表の第 I 欄)。

しかし、植物抽出液中には、第 1 表に示したように、

分量の異なる種々の溶存物があり, それがアミロデキストリン溶液の濃度を高めたことになるための影響が考えられる。そこで, 次に固形物量が3%以上の植物抽出液をえらび, それらの固形物量が全部3%となるよう稀釈

第1表 植物抽出液中の乾物量, pH, および蛋白質量

植物抽出液	乾物量(%)	pH	蛋白質量(%)
ジャガイモ	1.6	6.1	0.20
サツ高系14号	3.8	6.2	0.17
マイゴコク	2.6	6.0	0.14
モコナセンガン	2.8	6.2	0.17
エンタマユタカ	3.2	6.3	0.14
ウドウ	3.2	6.7	0.73
ソラマメ	2.8	6.5	0.67
トウモロコシ	3.0	7.6	0.18
クシリ	5.6	6.3	0.28
レンコン	2.7	6.1	0.25
キャベツ	2.1	5.6	0.10
小麦	6.8	5.9	0.66

第1図 サツマイモ抽出液の種類によるアミロデキストリンの結晶図形
タマユタカ: C_A , 高系14号: C_C , 対照: C_B .

し, この一定固形物を含む稀釈液を用い前同様の方法でアミロデキストリンを結晶化した。ただし, ジャガイモとレンコンは前記 2. の調製法によると固形物がそれぞれ 1.6% と 2.7% の抽出液が得られるが, 同一原料をそのまま削り下して得た汁液につき 2. の方法を用い, やや濃厚な液を得, これをうすめて固形物量が3%になるよう抽出液を調製した。その結果を第2図と第2表の最右欄(II)に示す。なお, この場合は, 抽出液の固形物量3%に相当する量のアミロデキストリンを追加した水溶液を対照とした。第2表II欄に示すように, ジャガイモとレンコンでは明らかに固形物を増加した影響が出て, いずれもI欄の C_C から C_A へと図形が変化した。また固形物6.8%と濃厚であった小麦粉抽出液では3%への稀釈の影響が表われて C_A だったものが C_C となり, B形に近づいた。クリには大した変化が認められなかつ

第2図 植物抽出液中の固形物を3%にした場合のアミロデキストリンの結晶図形

ジャガイモ: C_A , レンコン: C_A , トウモロコシ: C_A , 対照: C_B .
なお3種の C_A ではトウモロコシ→レンコン→ジャガイモの順でA形に近づいている。

第 2 表 植物抽出液によるアミロデキストリンの結晶形

植物抽出液	結 晶 形	
	I *	II **
ジャガイモ	C _C	C _A ***
サツマ イモ	高系 14 号	C _C
	ゴコク	—
	コナセンガン	—
	タマユタカ	C _A
エンドウ	C _A	C _A
ソラマメ	C _A	—
トウモロコシ	C _A	C _A
クワリ	C _A	C _A
レンコン	C _C	C _A ***
キヤベツ	C _C	—
小麦	C _A	C _C
水	C _B	C _B

* 植物抽出液そのままを用いて結晶化した場合。

** 植物抽出液中の固形物量を 3% にして結晶化した場合。

*** 植物原料に水を追加せずに磨砕して得た抽出液をうすめて調製した。

た。その他は稀釈の度も少なく大した図形の変化はなかった。

また対照の水溶液では、3% の固形物量に相当するアミロデキストリンを増量して濃度を上げたが、とくに認め得るほどの変化は出ておらず、依然として C_B である (第 1 図と第 2 図の水溶液の図形参照)。このように固形物の濃度の差による影響を除去しても、なお植物抽出液中にはアミロデキストリンの結晶図形を A 形の方へ押しやる物質の存在が確かめられた。

この点をさらにはっきりさせるために、最も固形物の多い小麦粉抽出液の固形物量を 6.8% から 4%, 3%, 1% と順次うすめたものを使用して、同様のアミロデキストリン濃度で結晶化した。水の場合も同じく 6.8, 4, 3, 1% の固形物に相当するアミロデキストリンを追加した溶液を用いて結晶化した。すなわち、小麦粉抽出液とそれぞれ固形物量を等しくして比較した。その結果の一部を第 3 図に示す。水の場合はアミロデキストリン追加量が多くなるにつれ、また小麦粉抽出液の場合は固形物量が多くなるにつれ、いずれも傾向としては A 形に近づくが、水の場合には 3 者とも依然として C_B であり、小麦粉抽出液の 4% と 6.8% 固形物の場合の C_A 図形とは明らかに異なっている。

このように、植物抽出液中にアミロデキストリンの結晶化に影響し、A 形の結晶形に近づけさせる物質が存在していることが明らかになったが、この物質を検索する

第 3 図 小麦粉抽出液の濃度を変えた場合とその固形物に相当するアミロデキストリンを追加した水溶液の場合の結晶図形 (説明は本文中)

ために 2, 3 の実験を行なった。

まず、脂質の影響を考えて、エンドウ抽出液とジャガイモ抽出液とをそれぞれ抽出液と同量のエーテルで 2 回抽出し、エーテル可溶物を除いた水層を沸とう水中で、しばらく加熱して残存エーテルを除いた抽出液でアミロデキストリンの結晶化を試み、その再結物を X 線回折法で試験した。ジャガイモ抽出液の場合も、エンドウ抽出液の場合もエーテル処理の影響がみとめられなかった。

さらに、植物抽出液に含まれている無機塩類の影響を調べるために、植物中に常成分として含まれていると考えられる KCl, K₂HPO₄ と、植物中にはないが結晶形を A 形とする代表的な無機塩⁽⁹⁾である KI の 3 者を選び、各々 3% 水溶液としてアミロデキストリンの結晶化を試みた。その結果、KCl と KI 溶液では完全に A 形、K₂HPO₄ 溶液では C_A 形となり、非常に強い影響を示した (第 4 図)。すなわち、植物抽出液中に含まれる数%

第 4 図 無機塩類溶液のアミロデキストリンの結晶図形
KI: A, KCl: A, K_2HPO_4 : C_A , 対照: C_B .

第 3 表 アミロデキストリンの沈殿量と植物抽出液の関係

植物抽出液		沈 殿 量 (mg)	%
ジャガイモ		500	58.9
サツマ	高系 14 号	481	56.8
	ゴコク	527	62.0
イモ	コナセンガン	536	63.1
	タマユタカ	578	68.0
エンドウ		558	65.8
ソラマメ		559	65.9
トウモロコシ		483	56.9
クリ		456	53.9
レンコン		371	43.7
キャベツ		503	59.3
小麦		634	74.9
水		207	24.3

の固形物のうち、無機塩類がX線図形に相当影響することと推定される。

最後に、以上の種々の植物抽出液でアミロデキストリン

を結晶化したとき、沈殿量が抽出液の種類によってかなり相違することがみとめられたので、第 2 表 I 欄に示した結晶化の際の母液の全糖量を測定して、母液に残ったデキストリン量を求め、これからアミロデキストリンの沈殿量を算出した。その結果が第 3 表である。この際は、対照の水の場合、抽出液の固形物に対する濃度差の配慮は払っていないが、それにしても水だけの場合に比べて結晶として沈殿したアミロデキストリンの量が著しく多い。また固形物量のとくに多い小麦粉抽出液の場合を除いて、抽出液中の固形物の多少による差が、さほど認められない。すなわち、植物抽出液中にはアミロデキストリンの結晶形を A 形の方へ押しやる性質の物質が含まれていると同時に、アミロデキストリンの晶出を促進する物質も存在するものと推定される。

考 察

以上の実験で、水を用いた場合はアミロデキストリンの C_B 形の結晶形のものが得られる濃度と温度の再結条件の下で、水の代わりに同量の植物抽出液を用いると、いずれの場合も、アミロデキストリンの結晶形が A 形の方へ変化し、その程度が植物の種類によって異なった。

この事実は植物抽出液中に何かアミロデキストリンの結晶化に影響を与える物質が存在していることを示唆している。この物質は少なくとも抽出液のエーテル処理によっては除かれない。また無機イオンの存在が大きな影響を与えることは、すでに示されている実事⁽⁹⁾であるが、今回の結果もこれを支持している。これら塩類の種類と量的関係がここで得られた結果のように、植物の種類によって抽出液の影響に若干の差を与える結果になった原因の一つと考えられる。また、できるだけ生体内に近い条件で実験を行なうことを目的としたが、酵素作用を止める必要から加熱処理したために、大部分の蛋白質を除去した抽出液を使用した結果となり、蛋白質の影響を調べることはできなかった。これは、今後検討されるべき問題であろう。

このように実験上の困難から、生体内でデンプンが生成する際の条件を、上の実験条件とを一致させることができなかったためもあるが、天然デンプンの結晶形とその植物からの抽出液の影響とが必ずしも一致していない。とくに典型的な B 図形のデンプン粒を作るジャガイモの抽出液が、アミロデキストリンの結晶を B 形よりむしろ A 形の方へ近づける作用を示すことは興味がある。

植物体では、デンプンは常に粒として存在し、微量でも溶けた状態で存在することが観察されていない。これは、デンプン分子が合成されたときには、直ちに沈殿して粒になり、その分はその粒に付加的に沈着するためと考えられる。このように、デンプンをすみやかに沈殿させる原因について現在不明な点が多いが、植物細胞中に何かの因子があるものと思われる。第 3 表の実験結果に示すように、水の場合と比較して、アミロデキストリンの沈殿量が著しく多いことから、植物抽出液にはアミロデキストリン分子を沈殿させやすい作用があるように思われる。このアミロデキストリンの結晶化を促進する物質と、結晶形を A 形の方へ押しやる物質とが同一物であるか否かは、まだ明らかでない。しかし無機イオンの影響から考えて、溶液中の水分を吸着する作用の強い物質があれば、結果的には濃度を上げたこととなり、結晶の量も多くなり、結晶形も A 形に傾くであろう。

要 約

市販の酒造用のデキストリンシラップから分離した結晶性のアミロデキストリンを、種々の植物抽出液を用いて再結晶し、その結晶形を X 線ディフラクトメーターで調べた。

その結果、植物抽出液の代わりに水を用いた場合には、植物抽出液中の固形物量に相当するアミロデキストリン量を増した場合にも、C_B 形の結晶形のものが得られた。これに対し植物抽出液を用いると、いずれの場合も結晶形が水の場合よりも A 形の方へ変化することが認められた。この結晶形を変化させる物質につき、2, 3 の考察を行なった。

また水溶液の場合に比べて、植物抽出液ではアミロデ

キストリンの沈殿量が著しく多い。したがって、植物抽出液にはアミロデキストリンの沈殿を促進させ、しかもその結晶形を A 形に近づける性質があり、その程度は植物の種類によってかなり相違することが明らかになった。

終りに、サツマイモを提供された三重大学農学部、前田巖氏と純結晶 β -アミラーゼを分与された鹿児島大学農学部、竹田靖史氏に謝意を表する。また本実験の費用の一部は文部省科学研究費、田辺製薬株式会社研究費にあおいだ。あわせて感謝する。

なお、本報の要旨は昭和 43 年 4 月名古屋大学における日本農芸化学会大会において発表した。

- (1) S. Hizukuri, M. Fuzii and Z. Nikuni : *Nature*, **192**, 239 (1961).
- (2) S. Hizukuri, M. Fuzii and Z. Nikuni : *Stärke*, **17**, 40 (1965).
- (3) 檜作 進, 前田 巖, 熊谷寛次, 土井健二, 二国二郎, 森脇 勉, 長谷川浩 : 日本農芸化学会講演要旨集, **213** (1966).
- (4) 熊谷寛次, 檜作 進, 二国二郎, 長谷川浩, 森脇 勉 : 日本農芸化学会関西支部第 120 回例会要旨 (1967).
- (5) 檜作 進, 二国二郎, 服部保綱, 和田収作 : 農化, **33**, 615 (1960).
- (6) M. Somogyi : *J. B. C.*, **195**, 19 (1952).
- (7) O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. Romdal : *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1961).
- (8) S. Hizukuri : *Agr. Biol. Chem.*, **25**, 45 (1961).
- (9) 檜作 進, 藤井ミナ子, 二国二郎 : *Biochim. Biophys. Acta*, **40**, 246 (1960).