HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	粳糯水稻種子澱粉の分子構造に関する研究
Author(s)	中村, 幸彦; 平野, 二郎
Citation	北海道大學農學部邦文紀要, 2(3), 16-22
Issue Date	1955-10-31
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/11587
Type	bulletin (article)
File Information	2(3)_p16-22.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

粳糯水稲種子澱粉の分子構造に関する研究

中　村　幸　彦*
平　野　二　郎*

Studies on the molecular structure of common rice starch and glutinous in ripening riceplant.

By
Yukihiko NAKAMURA
and Jiro HIRANO

序

最近澱粉の分解，合成酵素の種々なる発見，結晶化の進歩に伴い，これら精製された酵素を用いての in vitro に於ける澱粉の分解，合成の様相が Peat, Bourne, Whelan, Robert, Porter 等多数の研究者により次第に明らかにされてきた。しかし，これが in vivo に適切にあてはまるかどうかということに関しては，なお不明の点が多く，植物体内に於ける，或は微生物による，これら酵素の相関性，消長より考えられる澱粉分解，合成の機構については未だ想像の域にある様である。一方生成された澱粉の分子構造を解明してその生成過程を追求した研究は，Halsall, Hirst, 等による Potato tuber に於けるアミロース，アミロペクチンの異同比較，馬場氏の甘藷葉に於けるアミロース，アミロペクチンの性質，Meyer による馬鈴薯の緑葉の同化澱粉と塊茎及び葉の澱粉の比較，二国氏の緑葉中の同化澱粉に関する研究，丸尾氏の高等植物に於ける澱粉の生成機構等主として，同化澱粉を主体としており，貯蔵組織中の澱粉を対照とした研究は少い様である。そこで著者等は粳糯両種水稲を用いて，乳熟初期より完熟期に至る澱粉の分子構造的な関連性を物理化学的に追求し，粳糯澱粉の異同及び生成過程を解明せんとしたのである。

実　　験

実験に供した水稲は，次の品種のものである。

粳水稲：中性栄光，上育 β18 号 6，鶴亀×早生富国（昭和 28 年 6 月 13 日播種）

糯水稲：栄，上育 86い号，小川糯×松本糯（昭和 28 年 6 月 14 日播種）

試料の調製

粳糯水稲種子を乳熟初期，中期，後期，及び完熟期に分けて採取した。

即ち粳水稲種子は 9 月 8 日，9 月 18 日，9 月 27 日，10 月 5 日，糯水稲種子は 9 月 9 日，9 月 19 日，9 月29 日，10 月 5 日に採取し，乳熟初期，中期のものはそのまま，乳熟後期のものは水を加えて乳鉢にて磨砕後，布にて濾して乳汁液を得，0.4 % の NaOH 溶液を等量加え，1 昼夜放置す。完熟期のものは精米後 0.2%の NaOH 溶液に 5 日間浸漬後，乳鉢にて磨砕し，0.2 % の NaOH 溶液を加え 1 昼夜放置す。上澄液はサイフォンにて除去し，Biuret, Millon の呈色反応の消えるまで 0.2 % NaOH にて浸漬を繰返し最後に蒸溜水にてアルカリ性の無くなるまで洗滌し，アルコール，エーテルにて洗滌脱水後 70°C で 5 日間真空乾燥する。

脱　脂

Schoch の方法によつて脱脂した。即ち試料澱粉に 5 倍量の 85 % メタノールを加えて，湯浴上にて還流冷却器を付して加温し，10 時間毎にメタノールを取換えて，50 時間脱脂し，アルコール，エーテルにて洗滌脱水後，無水燐酸上で 70°C で 5 日間真空乾燥した。

以後，粳澱粉の乳熟初期，中期，後期，完熟期のものを粳－Ⅰ，－Ⅱ，－Ⅲ，－Ⅳ，糯澱粉の乳熟初期，中期，後期，完熟期のものを糯－Ⅰ，－Ⅱ，－Ⅲ，－Ⅳ，の記号にて表わす。

アルカリ数 (Alkali lability number)

* 北海道大学農学部農芸化学教室

各種粳糯澱粉の水懸濁液を沸騰水中に激しく攪拌しつつ徐々に注いで 3%の粘を作り, 10 分間沸騰後遠心分離して, 不分散の部分を除去する, 3 倍量のメタノールを加え, 遠心分離して沈澱を分離し, 無水メタノール, エーテルにて洗滌後無水燐酸上で 65°C, 4 日間乾燥する。この乾燥試料 500 mg を 250 cc の三角コルベンに精秤し, 蒸溜水 10 cc を加えて振盪しつつ, 0.4N の NaOH 25 cc を加えて, 均一粘化せしむ。次いで熱水 65 cc を加えて, 還流冷却器を付して, 激しく沸騰せる湯浴中に浸けて 60 分間保持後直ちに蒸溜水 50 cc を加え, 流水につけて急冷する。TB を指示薬として 0.1991N H_2SO_4 にて滴定し, 次の計算によつて, アルカリ数を算出した。

$$\frac{10\times(\text{対照の滴定数}-\text{試料の滴定数})\times 1.991}{\text{試料の乾物量}}$$

Table 1. Alkali lability number of Common starch and glutinous

Samples		0.199N H_2SO_4 (cc)	A.L.N.
common	I	46.05	7.57
	II	46.72	4.89
	III	46.61	5.34
	IV	45.32	10.48
glutinous	I	46.65	5.18
	II	46.82	4.50
	III	42.21	6.93
	IV	46.56	5.54
		47.95	

アルカリ処理後の各種澱粉の還元値及び Blue Value

還元値: アルカリ数測定後の各中和液を全量 500 cc とす。これより 10 cc をとり Hanes の方法により還元力を測定した。

Blue Value: アルカリ数測定後の中和液を 500 cc としたうちから 5 cc をとりヨード溶液 (2%KI+0.2% I_2) 5 cc を加え, 全量を 250 cc となし, Filter 57 を用いて光電比色計によりその呈する青色度を測定した。

各種試料澱粉の還元値及び Blue value

還元値: 各種試料澱粉 500 mg に 5 cc の 6 N NaOH を加え, 乳鉢中にて十分捏ね, M.R. を指示薬として H_2SO_4 にて中和後, セロファンを用いて流水に対して SO_4'' の消失するまで透析する。透析液を湯浴上にて蒸発乾涸し乳鉢にて磨砕後 100°C で乾乾燥する。この試料について, Meyer の 3,-5, Dinitrosalicylic acid の呈色法にて還元力を測定した。即ち各試料 100～200 mg を精秤し, 6 N NaOH 1 cc に溶解し水 2 cc を加え, 3,-5, Dinitrosalicylic acid 溶液 (1.5%) 1 cc を加え, 対照は 6 N NaOH 1 cc と水 3 cc を加う。両方を 65°C, 30 分間保持し, 急冷後, 試料には蒸溜水 20 cc, 対照には 3,-5, Dinitrosalicylic acid 1 cc と水 19 cc を加え, Filter 53 を用いて光電比色計にて呈色度を測定し, 標準曲線を用いて, 還元値を算定した。

Blue Value: 各種試料澱粉 100 mg を精秤し, 1 cc のエタノール及び 10 cc の水を加えて充分, 分散せし

Table 2. Reducing and blue values of common starch and glutinous after treatment with alkali.

Samples		Reducing value mg of maltose/10cc	reading scale * of photoelectric colorimeter
common	I	0.6	170.0
	II	0.36	172.5
	III	0.12	171.0
	IV	1.04	161.5
glutinous	I	0.14	181.0
	II	0.20	179.0
	III	0.40	186.0
	IV	0.26	181.0

* reading scale of photoelectric colorimeter is from 200 to 0.

Table 3. Reducing and blue values of common starch and glutinous.

Samples		Reducing value mg of maltose/gr of starch	reading scale * of photoelectric colorimeter
common	I	6.3	176.6
	II	9.0	177.5
	III	5.63	174.0
	IV	2.87	166.5
glutinous	I	5.4	193.0
	II	3.4	191.0
	III	7.8	190.2
	IV	1.80	187.5

* reading scale of photoelectric colorimeter is from 200 to 0.

め，2 cc の 10% NaOH を振盪しつつ徐々に加えて加温溶解し，全量を 100 cc とす。これより 5 cc を 500 cc のメスコルベン中にとり水を加え，6 N HCl を数滴加えて微酸性となし，ヨード溶液 (2% KI + 0.2 I_2) 5 cc を加え全量を 500 cc とす。Filter 57 を用いて光電比色計にて Blue Value を測定した。

考　　察

表1の結果からアルカリ数は，粳澱粉では，完熟期＞乳熟初期＞乳熟後期＞乳熟中期，糯澱粉では，乳熟後期＞完熟期＞乳熟初期＞乳熟中期の順であることからして，アルカリに対する抵抗性は粳澱粉では，乳熟中期，乳熟後期，乳熟初期，完熟期，糯澱粉では，乳熟中期，乳熟初期，完熟期，乳熟後期の順でそれぞれ強いと考えられる。Schoch, Tensen 等の研究によると，澱粉は，アルカリ溶液中で加熱によつて種々の酸性物質を生じ，しかもこの分解はアルデヒド基をもつ末端から起ると述べている。従つて，還元末端基を多く有する澱粉即ち分子の崩壊したような澱粉，アミロース系統の多い澱粉ではアルカリ数は高い値を示すと考えられる。実験の結果ではアルカリ処理後の還元値とアルカリ数との傾向は大体の一致を示している。Blue Value は澱粉がよりアミロース系統に近いか，或いは，アミロペクチン系統に近いかという一つの指標を示すものである。従つて表IIの結果から粳澱粉では，完熟期，乳熟後期，乳熟初期，乳熟中期，糯澱粉では，完熟期，乳熟後期，乳熟中期，乳熟初期の順でアミロース系統に近いか，平均鎖長が長いと推察されるが，この結果は必ずしもアルカリ数と一致しない。アルカリ処理後の Blue Value は粳澱粉では，完熟期，乳熟初期，乳熟後期，乳熟中期の順で高くアルカリ数と全く同一の傾向を示している。糯澱粉では，乳熟中期，乳熟初期，完熟期，乳熟後期の順に高く，丁度アルカリ数とは逆の傾向を示している。従つてアルカリ数より考えられる各種澱粉の差異は，アルデヒド基をもつ還元末端基の数と考えるよりも，澱粉そのものの構造の差異，換言すれば，ミセル構造，分子量，鎖長，分枝度等の物理化学的な構造の差異がより関係していると考えられる。

各種試料澱粉のアミロース，アミロペクチンの含量

粳糯澱粉について，Schoch のブタノール沈澱法による，アミロース，アミロペクチンの分離を試みたが，糯澱粉では冷却後或る程度の混濁を認めたが両成分を分離するに至らなかつた。粳澱粉から分離したアミロース，及びアミロペクチンの Blue Value を前記の方法で測定し，更に McCready, Hassid の Blue Value による方法で，アミロース含量を測定した。即ち分離したそれぞれのアミロースとアミロペクチンを，原粳澱粉の Blue Value と等しくなるように混合し，それよりアミロース含量を算定した。結果は次の表の如くである。

Table 4. Blue value of amylose and amylopectin fractionated from common starch.
(scale of photoelectric colorimeter is from 200 to 0.)

Samples		reading scale of photoelectric colorimeter	
		amylose	amylopectin
common	I	143.0	188.0
	II	143.0	187.0
	III	132.0	188.0
	IV	125.0	187.0

Table 5. Amylose contents of common starch

Samples		amylose (%)
common	I	24
	II	21
	III	20
	IV	27

電圧滴定法によるヨード吸着の様相及びヨード結合量

粳糯試料澱粉及び粳澱粉より分離したアミロース，アミロペクチンについてヨード吸着の様相を電圧滴定法にて測定した。即ち試料 20～40 mg を 0.5 N KOH 10 cc に分散し，蒸溜水を加え，Methylorange を指示薬として，HCl にて中和後 10 cc の 0.5N KI を加え，全量を 100 cc とす。この溶液に 0.001 N のヨード溶液 (0.05N KI + 0.05N KCl) を加えつつ，Potentiometer にて電圧を測定した。結果は次の図の如くである。

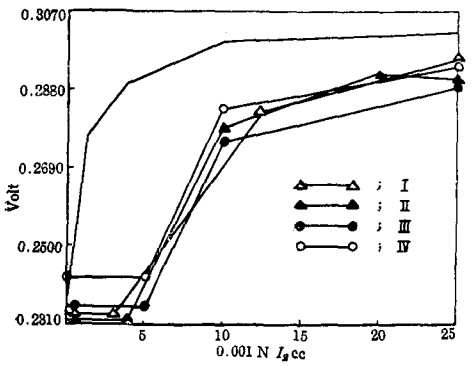

Fig. 1. Iodine absorption by ommon starch

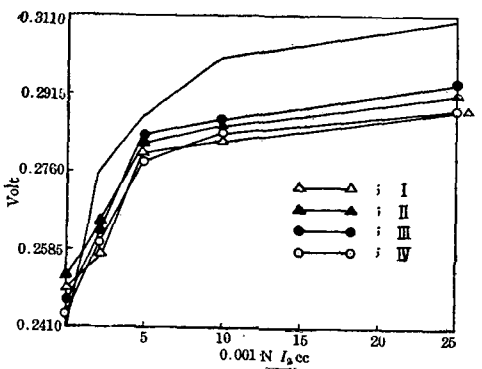

Fig. 2. Iodine absorption by glutinous starch

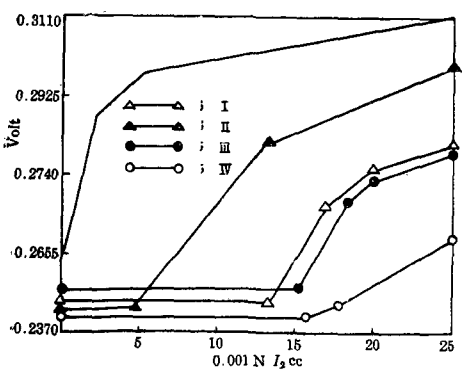

Fig. 3. Iodine absorption by amylose fractionated from common starch

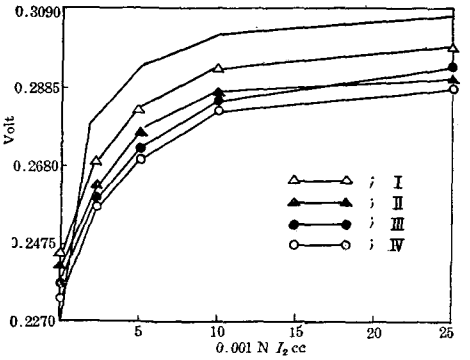

Fig. 4. Iodine absorption by amylopectin fractionated from common starch

上記のグラフより結合ヨード量及び遊離ヨード量を算出し，遊離ヨード量に対する結合ヨード量のグラフを求めた。即ち次に示す如くである。

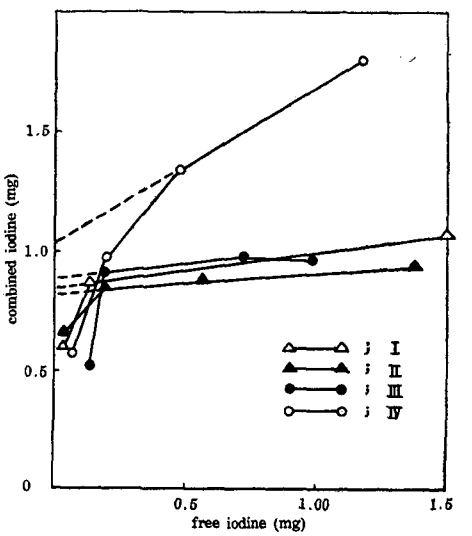

Fig. 5. Combined iodine amounts by common starch

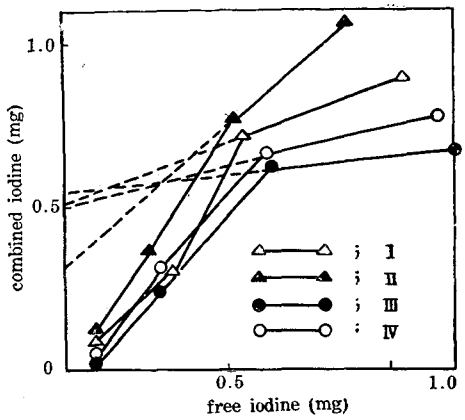

Fig. 6. Combined iodine amounts by glutinous starch

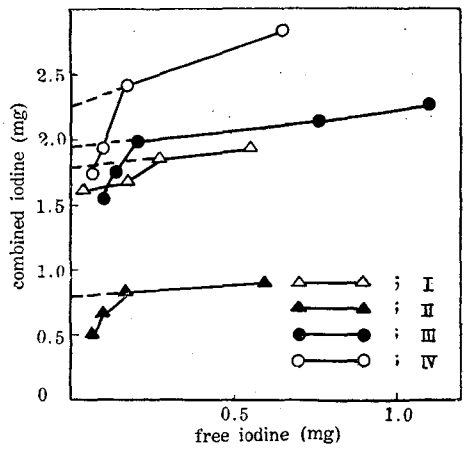

Fig. 7. Combined iodine amounts by amylose fractionated from common starch

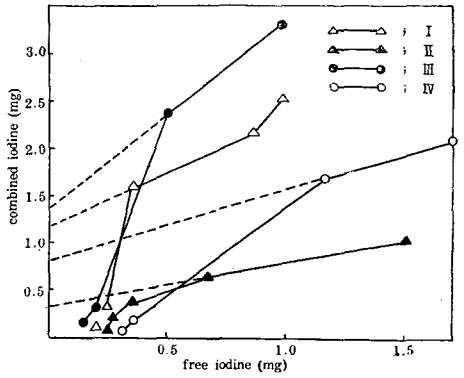

Fig. 8. Combined iodine amounts by amylopectin fractionated from common starch

グラフ 5, 6, 7, 8 より各種澱粉及びアミロース，アミロペクチンの結合ヨード量を算出したのが表6である。

Table 6. Combined iodine amounts by each starch, amylose and amylopectin.

Samples	common starch amylose (20 mg)	common starch amylopectin (40 mg)	common starch (40 mg)	glutinous starch (40 mg)
I	8.90 (%)	2.10 (%)	3.40 (%)	1.26 (%)
II	4.00	0.92	2.67	1.50
II	9.75	3.30	3.80	0.78
IV	12.05	2.70	3.90	1.27

各種試料澱粉の重合度

粳澱粉及び Schoch の方法により，分離し，調製した，アミロース，アミロペクチン，並びに糯澱粉の重合度を 3-5, dinitrosalicylic acid による方法で還元力を測定し，それより重合度を算出した。

Table 7. Polymerisation degree of each starch and their fractions

Sampls	common starch	glutinous starch	common starch amylose	common starch amylopectin
I	252	310	191	264
II	130	861	68	274
III	359	741	—	834
IV	695	1053	400	667

Table 8. Average chain length of amylopectin fractionated from common starch and glutinous.

Samples	amylopectin (0.4g) 1.09/100 N NaOH	amylopectin (0.4g) average chain length	glutinous starch (0.4g) 1.09/100 N NaOH	glutinous starch (0.4g) average chain length
I	9.8 cc	25	8.0 cc	31
II	10.18	24	9.65	26
III	8.65	29	10.16	24
IV	8.5	29	8.9	27

末端基の定量及び平均鎖長の測定

粳澱粉より分離，調製したアミロペクチン及び，糯

澱粉について，Potter, Hassid の $NaIO_4$ を用いる方法によつて末端基を測定した。即ち，試料 0.4g を精秤し，5cc の 1N NaOH に溶解し，0.9N HCl にて MR. を指示薬として中和後，10cc の $NaIO_4$ を加え，0°C で 25 時間放置後 1cc の ethylenglycol にて処理し 0.0101N NaOH にて滴定した。

各種試料澱粉のアセチル化価

アセチル化： 試料 2.0g を 300cc の三角コルベンに秤量し，ピリジン 8cc を加え，ガラス球と共に振盪溶解し，ピリジンを更に 20cc 及び無水醋酸 20cc を加え，時々攪拌しつつ，70°C で 4 日間放置す。後少量ずつ，氷水中に注加し，アセチル化澱粉を沈澱せしむ。これを酸性反応の消失するまで洗滌し，遠心分離後 100°C で乾燥する。

アセチル化価： Zechmeister の方法により測定した。即ち即ち各種アセチル化澱粉 0.45～0.4g を精秤し，0.201N KOH 50cc 及び，メタノール 10cc を加え，加温溶解後，振盪し，室温に 24 時間放置後，0.110N HCl にてフェノールフタレインを指示薬として滴定した。

各種アセチル化澱粉の施光度

アセチル化澱粉をピリジンに溶解して，0.5％溶液となし，施光度を測定した。

Table 9. Acetyl and optical rotation values of common starch and glutinous

Samples		acetyl value	$[\alpha]_D$ C;0.5% pyridine
common	I	43.81	114
	II	44.22	104
	III	44.32	100
	IV	44.62	146
glutinous	I	43.23	158
	II	44.13	152
	III	43.40	152
	IV	43.95	156

各種試料澱粉の粘度

各種試料澱粉をそれぞれ精秤し，1N NaOH に加温溶解して，それぞれ 0.5%，0.25%，0.125%，0.0625%の NaOH 溶液となし， Ostwald の粘度計により粘度を測定した。

次下3回の平均値をとつて図に表わしたものである。

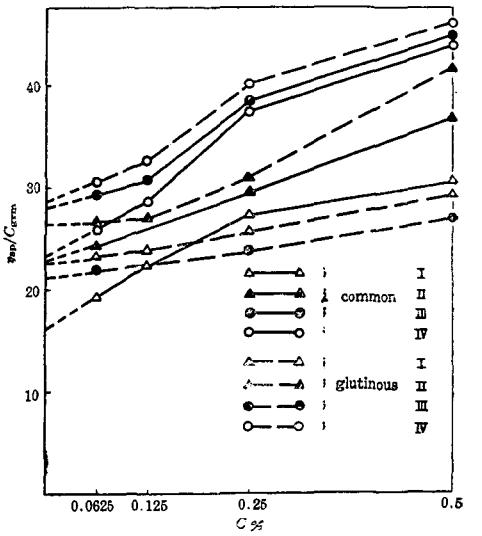

Fig. 9. Viscosity of common starch and glutious

考　　察

以上の実験結果より，粳糯澱粉の生成過程を考察して見るに，粳澱粉では，乳熟初期に於て比較的アミロースに富み，平均鎖長の長い澱粉が形成される。乳熟中期では，アミロースが著しい変化をうけて，含量が減少すると共に，分子の著しい崩壊が起る。アミロペクチンの重合度はほとんど乳熟初期のものと変りないが，平均鎖長が減少し，分枝度の増加した澱粉となる。乳熟後期に於ては，アミロース含量は最も少いが，しかし，アミロース，アミロペクチンの重合度共に著しく増加し，平均鎖長の増長した澱粉が形成される。完熟期に於てはアミロースの含量の最も富んだ，特にアミロースの重合度の著しく増加した澱粉が形成されると考えられる。

糯澱粉については，乳熟初期に於て，すでにかなりの重合度をもつた鎖長の長い，アミロペクチンからなる澱粉が形成される。乳熟中期に於ては，鎖長は少しく減少しているが，重合度及び分枝度の著しく増加した澱粉が形成される。乳熟後期では，前期に比し，重合度は減少しているが，分枝度の多い，鎖長のより短い澱粉が形成され，これが完熟期に於ては，最も分枝度の多い，鎖長の少しく延びた，糯澱粉の特徴を最もよく表現する澱粉が形成されると考えられる。粳糯両種澱粉を比較して見ると，何れも構造上その生成過程

に於て，重合，崩壊，重合の過程を経て，それぞれの特徴を最もよく表現する形態の澱粉が形成される。

しかもこの崩壊は粳に於ては，乳熟中期に見られ，重合度の増大は，アミロース分子と共にアミロペクチンにも見られる。

糯に於ては，崩壊は乳熟後期に起り，重合の増大は，乳熟中期に起り，粳の乳熟後期に於ける増大に比して著しい。しかも何れの熟期に於ても糯分子は粳に比して，大きい重合度を有して，変化が行われていると考えられる。

総　説

1. 粳糯両種水稲種子よりそれぞれ4期に分けて，各澱粉を分離，調整した。

2. 各期に於て調製した澱粉について，Blue Value，アルカリ数，還元力，ヨード吸着，アセチル化価，粘度，重合度，末端基，旋光度等物理化学的立場から，分子構造を研究した。

3. 各粳糯澱粉よりアミロース，アミロペクチンを分離し，Blue Value，アミロース含量，重合度，及び鎖長を測定した。

4. 実験結果に基ずいて，粳糯両種澱粉の生成過程を追求した。即ち何れも重合，崩壊，重合の過程を経て，完全な粳糯の性質を表現する澱粉となる。粳に於ては，アミロース，アミロペクチン共に，重合，崩壊，重合の過程が見られ，特にアミロースの変化が，粳澱粉の諸性質に大なる影響を与えている。

5. 光学的実験結果から，$[\alpha]_D$ は粳は，糯に比して低く，各粳澱粉の $[\alpha]_D$ の差異は，糯の各澱粉の差異に比して著しい。

文　献

Helen Porter: Biochem. J. 54 i (1953).

W. J. Whelan: Biochem. J. 54 ii (1953).

E. J. Bourne: Biochen. J. 54 iii (1953).

二国，不破：農化誌，23, 11 (1950).

馬場：農化誌，26, 11 (1952).

T.J. Schoch, C.C. Tensen: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 12, 531 (1940).

R.M. McCready, W.Z. Hassid: J. Am. Chem. Soc. 65, 1154 (1943).

C.S. Hanes: Biochem. J. 23, 99 (1929).

F.L. Bates., R.E. Rundle.: J. Am. Chem. Soc. 65, 142 (1943).

T.G. Halsall., E.L. Hirst. and F.W. Sansone.: Biochem. J. 43, 70 (1949).

D.D. Lord: J. Colloid. Science, 5, 360 (1950).

S. Lansky, M. Kooi, T.J. Schoch: J. Am. Chem. Soc. 71, 4066 (1949).

K.H. Meyer, P. Bernfeld: J. Physi. Colloid. Chem. 53, 319 (1949).

L. Zechmeister, G. Toth: Ber. 64, 866 (1931).

Summary

1. Eight samples of common rice starch and glutinous were prepared in each of four ripening stages of each rice-plant.

2. The molecular structure of each starch obtained was investigated by chemical and physicochemical properties such as, blue value, alkali lability number, reducing value, iodine absorption, polymerisation degree and viscosity.

3. Amylose and amylopectin were fractionated from each of four common starch preparations and their properties, blue value, iodine absorption, polymerisation degree and average chain length, including amylose content, were determined.

4. From the results described above, both common and glutionous starch seems to be formed through the molecular interchange between polymerisation and degradation, and the remarkable increase of polymerisation degree of glutinous starch was observed in earlier stage of ripening in comparison with common starch.

Furthermore, this biochemical process was recognized in each of two constituents of common starch, amylose and amylopectin, but the interchange of amylose affected the greater effect to the characters of common starch than that of amylopectin.

5. Optical rotation values were smaller in common starch than in glutinous and in the same series of starch, differences of optical rotation values were more remarkable in common than in glutinous.