

# どんぐりでんぷんの構造と酵素による加水分解

大川政志\* 伊藤真愛\*

## The Structure and Hydrolysis by Enzyme of Acorn Starch

OOKAWA Masashi\*, ITOU Mai\*

**Abstract:** We investigated the crystal structure and hydrolysis by enzyme of acorn starch. As a result of the crystal structural analysis by powder X-ray diffraction method, it was found that the starch of acorns (kunugi, arakashi and konara) have structure of C-type. The konara starch was converted to monosaccharide or oligosaccharide by hydrolysis using enzyme. It was assumed that the crystal structure of starch affects hydrolysis reaction of it.

**Key Words:** Acorn starch, Crystal structure, Hydrolysis

### 1. 諸言

果実が固い殻に包まれ、果皮は乾燥している木化果実を堅果と呼ばれ、カシ、コナラ、クヌギなどの果実はどんぐりと呼ばれる。コナラ、アラカシなどのどんぐりには50%以上のデンプンと数%程度のタンニン成分が含有されている<sup>[1]</sup>。どんぐりのデンプンを食料として供するためには効率的な採取とタンニン成分とタンニン成分の除去が必要となり今日食用としての利用がほとんど行われていない。食用に利用されない堅果デンプンを化学的に燃料や原料などへ転換できればバイオマスとして可能性があると考えられる。

デンプンは、異なるグリコシド結合を有するアミロースとアミロペクチンから形成され、それらの割合は植物によってほぼ一定とされている。一方、デンプンは、結晶質と非晶質の部分が混在する構造をとり、その結晶は水和構造の異なる3種類 (A-, B-, C-type) に分類される<sup>[2]</sup>。A-type デンプンは、単斜晶系でありグルコース 12 分子から形成されるグルカンの二重らせん構造が細密に充填していて、単位格子内に4~8分子の水が水和した構造をとる<sup>[3]</sup>。デンプンの物性とゲル化温度を支配する構造である<sup>[2]</sup>。コーンスターチが典型的なA-type である。B-type は六方晶形をとり、グルカンの二重螺旋構造が空隙を作って充填しているため、単位格子中に36分子の水が水和している<sup>[3]</sup>。A-type より水中で加熱する場合膨張、粘度が高くなることに影響を及ぼす<sup>[2]</sup>。芋デンプンが典型的なB-type である。C-type デンプンはA- B-type とB-type が混合した構造となる。

近年、様々などんぐりのデンプン構造について報告されている<sup>[4-6]</sup>。セイヨウヒイラギガシ (*Quercus rotundifolia*)<sup>[4]</sup> コルクガシ (*Quercus suber*)<sup>[4]</sup> やコナラ (*Quercus branti*)<sup>[5]</sup> のデンプンが C-type、アメリカガシワ (*Quercus palustris*) が A-type<sup>[5]</sup> であることが報告されているが日本に自生するどんぐりデンプンの結晶の種類については知られていない。

そこで我々は、非食用堅果であるどんぐりデンプンの結晶の状態の調査を行った。さらに市販の消化酵素を利用してどんぐりデンプンの加水分解を試みた。

### 2. 実験

本実験では沼津高専において2017年の10月から11月の期間に地上に落下したクヌギ (*Quercus acutissima*)、コナラ (*Quercus serrata*)、アラカシ (*Quercus glauca*) の果実を採取して用いた。採取したどんぐりは水に浸し沈降した果実を市販の冷凍庫で保存した。以下の方法でどんぐりからデンプンの抽出を行なった。どんぐりの殻を割り、種子を覆っている薄皮を除去した。種子を水に入れ攪拌しタンニン成分の除去を行なった。ミルで粉碎した試料を布で包み、イオン交換水中でデンプンを抽出した。沈殿物を得た後、上澄み溶液を数回入れ替えタンニン成分の除去を行なった。ろ過して得られたデンプンは常温にて乾燥して試料粉末を得た。

デンプン構造の分析には粉末 X 線回折装置 (Panalytical X'Pert PRO) を用いた。測定は300秒/stepの速度で2θ = 5° ~ 30° の範囲で行なった。

消化酵素によるデンプンの加水分解反応は次に示す方法で

\*物質工学科

Department of chemistry and biochemistry

行なった。試料には市販のコーンスターチ、片栗粉（馬鈴薯（芋）デンプン）及び上記の方法で抽出したコナラデンプンを用いた。試料デンプン粉末約 1 g と水約 8 g 混合し 100°C の恒温槽中で攪拌させ、糊化させた。粉末にした消化酵素（第一三共 新タカヂア錠[6]）を約 0.15 g を糊化させたデンプン中に加えた。42°C で静置し、所定の時間で溶液をサンプリングした。

デンプンの分解はヨウ素デンプン反応を用いて分析した。さらに各反応時間後の水溶性の生成物を  $^{13}\text{C}$  NMR (JEOL JNM-ECX-400) を用いて分析した。分析する試料は反応後の溶液をろ過し、ろ液と重溶媒としての  $\text{D}_2\text{O}$  を混合して得た。

### 3. 結果及び考察

#### 3.1 どんぐりデンプンの構造

コーン、馬鈴薯、コナラ、クヌギ、アラカシのデンプンの XRD プロファイルを図 1 に示す。本実験で用いたコーンのデンプンも既報と同様に A-type 特有プロファイルを、馬鈴薯デンプンは B-type 特有プロファイルを示した。3 種類のどんぐりデンプンには A-type に特徴的な  $17^\circ$  付近のダブルピークと B-type に特徴的な  $5^\circ$  付近のピークの両者が観測された。このことから C-type の構造を持つことが分かった。

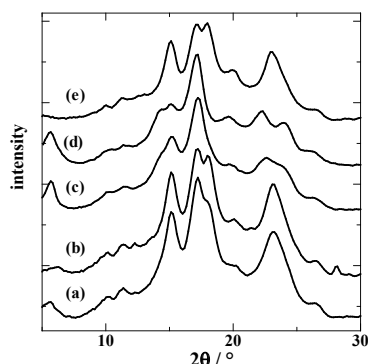


Fig. 1 種々のデンプンの XRD プロファイル。(a)コナラ(b)クヌギ (c)アラカシ (d)馬鈴薯 (e)コーン

しかし、どんぐりの種類によって XRD プロファイルが異なるため A-type と B-type の混合割合が異なることが推定できる。そこで今回測定した馬鈴薯デンプンとコーンスターチの XRD プロファイルをもとにどんぐりデンプンのプロファイルをシミュレートした。どんぐりデンプンの XRD の生データを○で、A-type と B-type の混合から得たプロファイルを実線で、両者の差を波線で Fig. 2 に示した。Fig. 2 (A) にコナラデンプン、Fig. 2 (B) にクヌギデンプン、Fig. 2 (C) にアラカシデンプンの結果を示した。A-type の割合は、概ねクヌギでは 85%、コナラ 70%、アラカシ 30% となった。

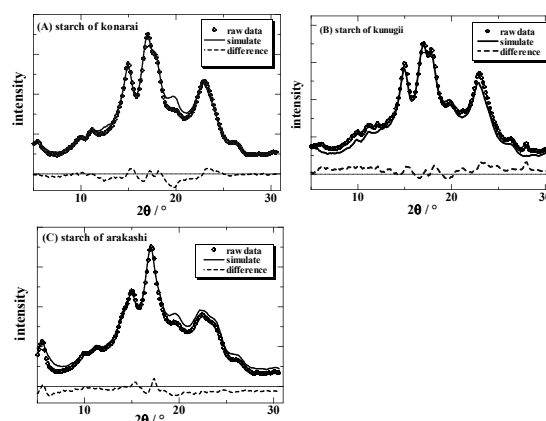


Fig. 2 コーン (A-type) と馬鈴薯 (B-type) からのどんぐりデンプンの XRD プロファイルのシミュレーション (A)コナラ (B) クヌギ (c) アラカシ

#### 3.2 消化酵素による加水分解

ヨウ素デンプン反応を利用した消化酵素によるコナラ、馬鈴薯、コーンの反応の結果を示す。馬鈴薯は 48 h の反応でヨウ素デンプン反応による発色を検出できなかった。コナラ、コーンでは 72 h の反応においてもわずかにデンプンによる反応の色が検出された。コナラの方が、短い反応時間でヨウ素による色が減色していたが、反応 72 後ではコーンの方がより減色して薄くなった。

各反応時間後に得られた消化酵素によるコーン及び馬鈴薯デンプンからの水溶性生成物の  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトルを測定した。まず、馬鈴薯の反応結果を図 3 (A) にコーンの反応結果を図 3 (B) とそのスペクトルの 100 ppm 付近の拡大図を図 3 (C) に示した。得られたスペクトルは単糖のグルコースや二糖のマルトースのスペクトルに類似していた。どんぐりデンプンから消化酵素によって水溶性の糖が得られることがわかった。

どちらのデンプンを用いても反応時間が長くなるにつれて 100 ppm 付近のピークの強度が減少し消失することが観測された。

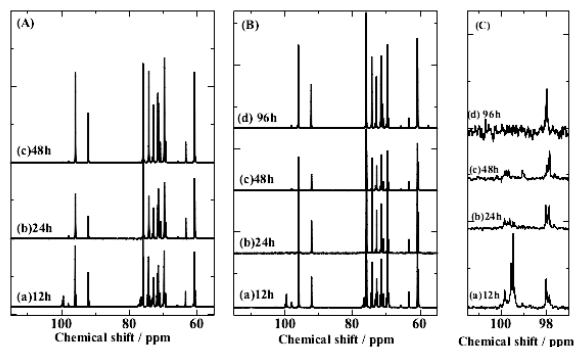


Fig. 3 デンプンの加水分解反応により得た水溶性生成物の  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトル (A) 馬鈴薯 (B), (C) コーン

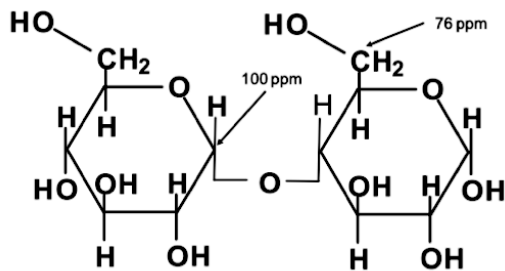


Fig.4 マルトースの分子構造

マルトース(Fig. 4)を例に取ると 100 ppm 付近のピークは 1, 4-グリコシド結合の 1 の炭素[ 7 ]に帰属される。馬鈴薯デンプンを反応させた場合には、24h の反応時間の増加によりグリコシド結合を持たない単糖のみが水溶性の化合物として生成することがわかった。コーンを反応させた時には 48h でわずかであるがシグナルが観測された。

コナラデンプンにおける反応結果を Fig. 5 に示した。コナラを用いて反応した場合には、コーンの場合と変化が類似し 24 h ではグリコシド結合の 1 位の炭素のシグナルが観測されたが 72h 以降に消失していることがわかった。

本実験の <sup>13</sup>CNMR スペクトルには 1, 6-グリコシド結合に由来するピークは観測されなかったため本実験で得られた水溶性の化合物は 1, 4-グリコシド結合のみから形成される多糖もしくは単糖と推測される。

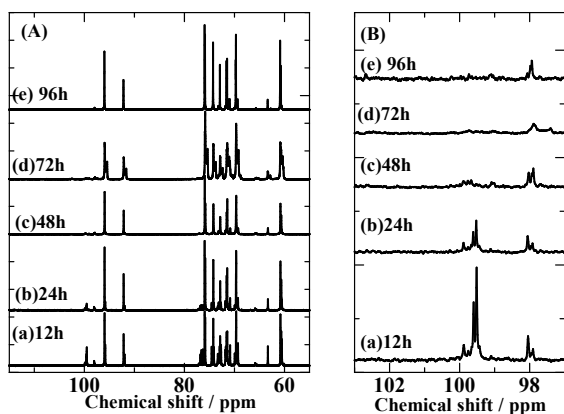


Fig. 5 コナラデンプンの加水分解反応により得た水溶性生成物の <sup>13</sup>C NMR スペクトル

このシグナルの変化を調べるために 100ppm 付近の <sup>13</sup>C NMR のシグナルの積分強度 ( $I_{100}$  ppm)と 6 位の炭素に帰属 (Fig. 4) される 76 ppm 付近のシグナルの積分強度 ( $I_{76}$  ppm) を求めた。両者の比 ( $I_{100} / I_{76}$ ) を反応時間に対してプロットし Fig. 6 に示した。5 分及び 30 分での反応時間の結果

も示している。

水溶性の糖は反応時間の経過とともに多糖から単糖へ変換され、単糖の生成速度が馬鈴薯 > コーン > コナラの順であることが示された。

コナラデンプンの 5 分の反応においても  $I_{100} / I_{76}$  が 0.5 未満であったため反応初期からデンプンから単糖と多糖を生成する反応が起きていると考えられる。

コーンと比較して馬鈴薯のデンプンの方が単糖への転換が起きやすい。B-type のデンプンは加熱時に膨張しやすいこと性質があるため消化酵素を加える前の糊化の時点ででんぶんを形成する鎖が広がり酵素が働きやすい構造となっているのではないかと推察できる。

推察した構造と加水分解反応の相関があるのであれば C-type であるコナラデンプンの加水分解反応はコーンより速いことが期待されるが、結果はコーン > コナラの順となった。本実験で用いたコナラは水に浸すだけのアク抜きしか行っておらず市販のデンプンに比較して精製が不十分である。そのためデンプン以外の他の成分が酵素による分解反応を阻害している可能性がある。どんぐりデンプンの精製法の検討や他の C-type デンプンでの反応や消化酵素ではなく酸を利用した加水分解反応などを行い構造と加水分解反応の関係性を確認する必要があると考える。

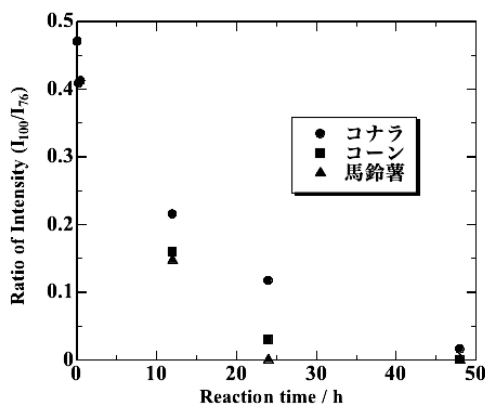


Fig. 6 反応時間に対する  $I_{100}/I_{76}$  比の変化

4. 結言

本校で採取したどんぐり (コナラ、アラカシ、クヌギ) のデンプンの結晶構造を X 線回折により分析し全て A-type と B-type が混合した C-type であることがわかった。どんぐりデンプンにおける A-type の割合は、クヌギ > コナラ > アラカシの順に少なくなることが示された。

コナラデンプンは消化酵素を用いた加水分解反応により単

糖や多糖を生成した。

#### 参考文献

[1] 松山利夫, 「木の実」ものゝ人間の文化史 47, 法政大学出版局, 1982, pp.371.

[2] 岡崎正規. 独立行政法人農畜産業振興機構. サゴでん粉をめぐる現状と将来 [https://www.alic.go.jp/johod/joho08\\_000037.html](https://www.alic.go.jp/johod/joho08_000037.html), 参照日 2022-11-24.

[3] Imberty, A., Bulon, A., Tran, V., Prez, S. Recent advances in knowledge of starch structure. *Starch/Strke*, 43, 1991, pp. 375-384.

[4] Paula M. R. Correia, Luísa Cruz-Lopes, Luísa Beirão-da-Costa, Morphology and structure of acorn starches isolated by enzymatic and alkaline methods, *Open Agriculture*, 6, 2021, pp. 37–46.

[5] Mehdi Taib and Lahboub Bouyazza, Composition, Physicochemical Properties, and Uses of Acorn Starch, *journal of chemistry*, Volume 2021, Article ID 9988570, 9 pages (2021).

[6] 第一三共ヘルスケア. タカヂア錠. 製品詳細.

<https://www.daiichisankyo-hc.co.jp/products/details/takadia/>, 参照日 2022-11-24.

[7] Chemical Book. MALTOSE(69-79-4) <sup>13</sup>C NMR . [https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN\\_69-79-4\\_13CNMR.htm](https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_69-79-4_13CNMR.htm), 参照日 2022-11-24.