

ながいものアミラーゼに関する研究 (第2報)

ながいも汁液のアミラーゼ作用について*

1958年10月30日受付

岡啓次郎** 坂入和彦*** 島田慶子****

は し が き

ながいもとろろ汁として食用にするときは、デンプンは生のまま摂取されることになる。これはデンプン質食品としては、非常にめずらしいことであり、このことを明らかにするために、わたしたちは先にながいものデンプンについて研究した。その結果、この興味ある事実を含まれるデンプンの側からのみ説明することは困難であることを知った。¹⁾

つぎに考えられることは、ながいもの成分には、デンプンとともにアミラーゼが含まれているので、このアミラーゼがながいもデンプンを生のまままで分解することである。

生デンプンを分解する力はアミラーゼの種類によって異っていて、その力はβアミラーゼには全くなく、αアミラーゼにのみあることが Sandstedt ら²⁾ により見出されてから、多数の研究がある。もし消化管内で膵臓アミラーゼによってながいもの生デンプンが分解される前に、ながいものアミラーゼによって分解されるとすれば、ながいものアミラーゼはαアミラーゼをかなり強力に含んでいなければならない。

ところが、ながいものアミラーゼについては、片山³⁾ がジオスコジアスターゼを分離し、二三の性質をしらべているほか、府中⁴⁾ が調理化学の観点からながいもとだいこんのアミラーゼを比較し、また pH、温度、食塩の影響をしらべている以外にほとんど研究がなされていない。しかもこれらはいずれも粗アミラーゼについてなされた研究である。

そこで、わたしたちはながいものアミラーゼをα型とβ型に区別して研究しようと試み、第1報⁵⁾ において大場はながいもからアミラーゼを抽出する方法を検討し、またながいもからβアミラーゼを分離してその作用最適pHが5.0附近であることを見出した。

本報はながいものαアミラーゼを分離して、その性質

* Studies On Amylase of Dioscorea. (part II)
On Amylase action of pressed Juice.

** Keijirō Oka (Prof. of Food Chemistry)

*** Kazuhiko Sakairi (Lecturer of Chemistry)

**** Keiko Shimada

を検討するための前段階として、ながいも汁液のα、β両型アミラーゼの強度と比率を明らかにしようとしたものである。

実験および考察

実験方法

アミラーゼの作用は、液化、糊精化、糖化ならびに旋光性の変化に分けられるが、このうち糊精化力の強いアミラーゼはα型、糖化力の強いアミラーゼはβ型であることが知られている。したがって本報ではαアミラーゼとβアミラーゼの作用力を検討するためにそれぞれ糊精化力と糖化力を測定した。

(1) 糊精化力

Wohlgemuth法原法⁶⁾を用いた。この方法は1%可溶性デンプン液と種々の希釈度の酵素液とを38°Cで30分または24時間反応させて、ヨウ素呈色が一定点に達する酵素量を決定するものである。これを行うには、番号をつけた10本の試験管に順に2倍ずつに希釈した酵素液1mlずつをとり、各管に1%可溶性デンプン液5mlとトルオール2~3滴を加え、せんをして38°Cに30分または24時間放置した後、各管に蒸留水を加え、つぎに0.1Nヨウ素液2~3滴を加える。このとき紫色になった管をデンプンが分解された限界とし、この限界の管の前位の番号から、つぎのようにして酵素量を算出する。

たとえば、第9の管が限界であったとすると、第8の管には酵素液が $\frac{1}{2^7} = \frac{1}{128}$ mlが入っていることになるから、この酵素が1%デンプン液5mlを分解して、デキストリンにしたことになる。したがって酵素液1mlによって分解される1%デンプン液の量は $\frac{5}{1/128} = 640$ となり、この場合の酵素力は $D_{24h}^{38} = 640$ であらわされる。

(2) 糖化力

グルコシド結合の加水分解による還元性末端基の増加による還元力の増加を測定する方法⁷⁾ である。これを行うには、0.05N緩衝液を含む1.2%可溶性デンプン液10mlを約100ml内容の共せんつき三角フラスコに入れ、30°Cのサーモスタットにつける。一定時間後に同じ温度に保った酵素液2mlを加え、反応を開始し、正

確に10分間たったとき、1N硫酸1mlを加え、反応を停止させ、生成した還元糖を Bertrand 法により、グルコースとして定量する。この値の最初の作用混液中のデンプン量(グルコースとして算出)に対する%をもって糖化率とした。対照としては、基質溶液に塩酸を先に加えてから、酵素液を加えたものを用いる。

実験 1. ながいも汁液と他のいも類汁液とのアミラーゼ作用の比較

1) 試料

a) ながいも 埼玉県大宮市蓮沼 1764 番地塩野方で 1957年9月に収穫して、いも穴に1年間貯蔵してあったやまといも。

b) さつまいも 東京都杉並区下高井戸の農家で1958年9月に収穫した紅農林種。

c) ジャがいも 東京都杉並区下高井戸日本農業研究所圃場で1958年9月に収穫した男しゃく種。

2) 汁液のとり方

いもをよく洗い、皮ごと陶器製のおろし器ですりおろし、試料と同重量の蒸留水を加え、よくかきまぜた後、遠心分離にかけ、上層の液体部分を目のこまかい布、つぎに口紙で吸引口過する。

3) 糊精化力の測定

Wohlgemuth 法の 30 分法と 24 時間法とを用いた。

4) 還元力の測定

a) 基質溶液 可溶性デンプン2.4g(水分補正)を140mlの水を加えて、沸騰水中で加熱溶解してから、pH 5.0 の 0.2N 酢酸緩衝液 50ml を加え、さらに水で全量を 100ml とする。

b) 反応液の配合

	ながいも	さつまいも	ジャがいも
基質溶液	40ml	40ml	40ml
いも類汁液	8ml	8ml	8ml

c) 反応条件 30°C で10分、30分、60分間反応させた。

d) 定量 反応液 12ml をとり、1N硫酸1mlを加えて反応を止め、7mlの水を加えて全量を 20ml として Bertrand 法で定量し、グルコースとして糖化率を算出した。

e) 盲験 基質溶液 10ml にあらかじめ 1N硫酸1mlを加えてから、2ml のいも類汁液を加え、7mlの水を加えた後、Bertrand 法で定量した。

5) 測定結果

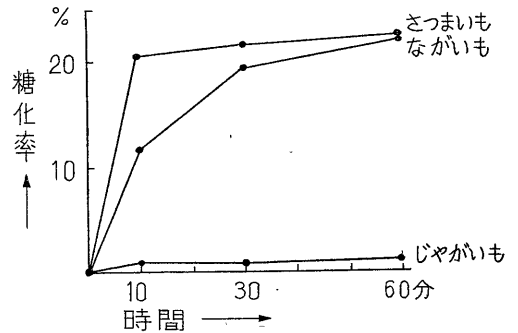
a) 糊精化力

	ながいも	さつまいも	ジャがいも
d_{30}^{38}	5	< 5	0
d_{24h}^{38}	80	10	0

b) 糖化率(%)

	ながいも	さつまいも	ジャがいも
10 分後	11.6	20.8	0.8
30 分後	19.7	21.7	0.9
60 分後	21.8	22.1	1.1

図1 各種いも類汁液の糖化力比較



この実験を行ったときは、ながいもの新しいもはまだ収穫されていなかったために、ながいもだけは古いものを使っているが、この結果からわかるように、ながいも(古いも)汁液の糊精化力はさつまいも汁液より大きく、約8倍である。一方ジャがいも汁液はほとんど糊精化力がない。糖化力は初期反応では、さつまいもに劣り、10分後にはその56%にすぎないが、60分後にはほぼ等しくなる。ジャがいもは糖化力も非常に弱い。

実験 2 収穫直後のながいも汁液と一年間貯蔵したながいも汁液とのアミラーゼ作用の比較

1) 試料

ながいもの品種および産地は実験1と同じであるが、収穫時期が次のように異なる2種の試料を用いた。

新しいも 収穫時期 1958年9月

古いも " 1957年9月

古いもは産地の農家のいも穴に常法により貯蔵したものである。

2) 汁液のとり方 実験1と同様にすりおろし、そのまま遠心分離にかけて、汁液を分け、口過し、口液にそれと同重量の蒸留水を加えて2倍に希釈した。

3) 糊精化の測定法 実験1と同じ。

4) 還元力の測定法 実験1と同じ。

5) 測定結果

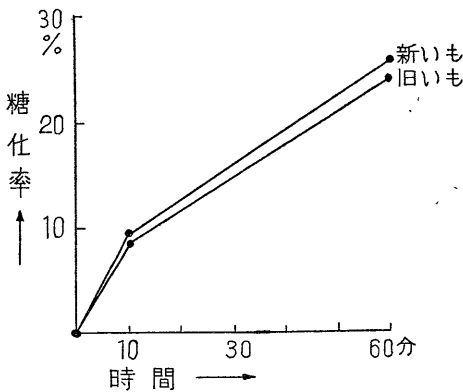
a) 糊精化力

	ながいも（新）	ながいも（旧）
d_{30}^{88}	< 5	5
d_{24}^{88}	5	40

b) 糖化率（%）

	ながいも（新）	ながいも（旧）
10 分 後	9.5	9.4
60 分 後	26.0	24.4

図2 新旧ながいも汁液の糖化力比較



この結果からわかるように、新しいもと古いもでは糊精化力はかなり異っていて、新しいもではαアミラーゼの力が弱く、貯蔵によって強くなるのがわかる。これに反し糖化率は新しいもがわずかに強いだけで、ほとんど変わらない。

種子や根茎中のアミラーゼ力は休眠と深い関係のあることが古くから知られている。たとえば、ジャガイモ塊茎のアミラーゼ含量は休眠期間中は少ないが、休眠終了とともに急激に増大すること⁸⁾、大麦の未発芽種子のアミラーゼは主としてβ型であるが、発芽種子ではα型になること⁹⁾など、従来発表されていることと実験結果は一致している。

なお、実験1はながいもだけは古いもを使っているが、もし実験2の結果をこれと組み合わせると、三種のいものアミラーゼ力を新しいもについて比較することができる。それによるとながいもの糊精化力はさつまいもよりやや小さくなる。

したがって、収穫直後のながいもは、いも類中でとくにαアミラーゼ力の強いものであるとは考えられない。

実験3 ながいも汁液を酸熱処理したときのアミラー

ゼ作用の変化

- 1) 試料 実験2の古いもを用いた。
- 2) 汁液のとり方 実験1と同じ。
- 3) 汁液の酸熱処理¹⁰⁾ 汁液 10ml に 0.1N HCl を加えて、pH 2.6 とし、40°C のサーモスタット中に 30 分間保った後、0.2M Na₂HPO₄ を加えて、pH 6.0 に戻し、正確に 50ml に満たした。
- 4) 糊精化力の測定 多数の試験管に 8ml の蒸留水と 0.1 N ヨウ素液 1 滴を加えておき、これに作用混液数滴を加えたときの色調の変化を見た。
- 5) 還元力の測定
 - a) 基質溶液 実験と同じ。
 - b) 反応液の配合

	新しいも		古いも	
	処理しないもの	酸熱処理したもの	処理しないもの	酸熱処理したもの
基質溶液	50ml	50ml	50ml	50ml
汁液	10ml		10ml	
酸熱処理汁液		50ml		50ml
蒸留水	40ml		40ml	

- c) 反応条件 実験1と同じ
- d) 定量 反応液 20ml をとり、2ml の 1N 硫酸を加えて反応を止め、Bertrand 法で還元糖を定量した。
- e) 盲験 基質溶液 10ml に 2ml の 1N 硫酸を加えておき、2ml の汁液、8ml の蒸留水を加えてから Bertrand 法で還元糖を定量した。

6) 測定結果

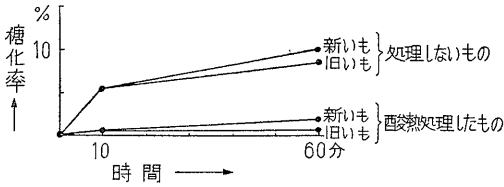
a) 糊精化力

	新しいも		古いも	
	処理しないもの	酸熱処理したもの	処理しないもの	酸熱処理したもの
反応前	紫	紫	紫	紫
10 分 後	赤紫	紫	赤紫	紫
30 分 後	赤紫	紫	赤	紫
60 分 後	褐	紫	黄	赤紫
90 分 後	褐	紫	黄	赤紫

b) 糖化率（%）

	新しいも		古いも	
	処理しないもの	酸熱処理したもの	処理しないもの	酸熱処理したもの
10 分 後	5.5	0.1	5.5	0.2
60 分 後	10.2	1.5	9.1	0.3

オ3図 ながいも汁液を酸熱処理したときの糖化力の変化



Ohlson¹¹⁾ によれば、麦芽浸出液を 70°C に 15 分間加熱すると、糖化力が低くて、糊精化力の強い酵素が得られ、また 0°C で pH 3.3 の酸性に 15 分間保つと、糊精化力が弱くて、糖化力の強い酵素が得られる。本実験の酸熱処理法は高岡ら¹⁰⁾がこれを修正したものであるが、酸熱処理によって α アミラーゼが破壊されて、 β アミラーゼの大部分が残っているものと考えられる。

したがって、この実験からながいものアミラーゼの大部分は α アミラーゼで、 β アミラーゼは少ないことがわかる。とくに古いものではこの傾向が強い。

実験 4 ながいも汁液とほぼ純粋なアミラーゼ標品とのアミラーゼ作用の比較

- 1) 試料 実験 2 の古いもを用いた。
- 2) 汁液のとり方 実験 3 と同じ。
- 3) アミラーゼ標品
 - a) α アミラーゼ標品 長瀬産業株式会社製ネオスピターゼ PN2 30mg を 100ml の蒸留水にとかしたものを用いた。
 - b) β アミラーゼ標品 Balls 法¹²⁾により農林種のさつまいもから分離した粗ペースト (β アミラーゼ単位 $S_{meq}/ml=1.23$) を用いた。
- 4) 糊精化力の測定 実験 1 と同じ。
- 5) 測定結果
糊精化力 (d³⁵)

	ながいも汁液	スピターゼ溶液	さつまいも β アミラーゼ
30 分	10	40	0
1 時間	20	80	0
2 時間	320	160	0
3 時間	320	320	0
16 時間	320	640	0

すなわち、ながいものアミラーゼの糊精化力は純粋な α アミラーゼに比し、反応の初期には低いが、12 時間になると急に高くなる。Wohlge-muth 法のようなヨウ素呈色法による α アミラーゼ力価の測定においては、 β アミラーゼが混在すると、ヨウ素呈色反応の消失速度が早められることが、古くから観察されている。¹³⁾ 本実験の結果はこのことを表わしているのであろう。

ヨウ素呈色の色調はスピターゼを加えたものでは橙や赤であるが、ながいも汁液を加えたものでは紫から無色に移行し、その中間色がない。これは次のように考えられる。デンプン分子中の直鎖部 (α 1-4 結合) は長さが約 30 以上の場合にはヨウ素と complex を作って青色に着色し、20 付近では紫、10 付近では、赤 6 付近では淡橙、それ以下では無色になる。 α アミラーゼでは中間の鎖長のものを生じるが、ながいも汁液の場合には α に β が混在しているため直鎖部がアミラーゼによって切断されると同時に β アミラーゼによって細断されるために直ちに無色に移行するのであろう。

実験 5 ながいも汁液の生デンプンに対するアミラーゼ作用

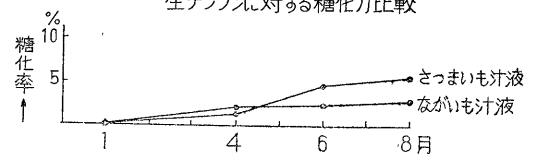
- 1) 試料 ながいもは実験 1 と同じ、さつまいもは杉並区下高井戸の農家で 1948 年 9 月に収穫した金時種。
- 2) 汁液のとり方 実験 3 と同じ。
- 3) 還元力の測定法
 - a) 基質 (生デンプン) やまといもから分離した精製デンプン¹⁴⁾を用いた。
 - b) 反応液の配合

生デンプン	1g (水分補正)
蒸留水	50ml
酢酸緩衝液 (pH 5.0)	20ml
いも類汁液	10ml
トルオール	1ml
 - c) 反応条件 実験 1 と同じ
 - d) 定量 反応液 10ml をとり、Micro Bertrand 法¹⁴⁾によって還元糖を定量した。
 - e) 盲験 生デンプンに対するアミラーゼ作用はきわめて遅いので、反応液を配合した直後の還元糖を盲験値とした。

**4) 測定結果
糖化率 (%)**

	ながいも汁液	さつまいも汁液
1 日後	0	0
4 日後	1.5	1.0
6 日後	2.3	4.6
8 日後	2.7	5.4

オ4図 ながいも及びさつまいも汁液の生デンプンに対する糖化力比較



ながいも汁液、さつまいも汁液はいずれも生デンプン分解力があり、ながいも汁液では8日後に2.7%を分解した。なお、ながいも汁液の分解力はさつまいも汁液の分解力よりも劣り、それほど強力なものとは考えられない。

生デンプンに対するアミラーゼの糖化作用はコ化デンプンにおけるほど容易なものでなく、その抵抗性の原因について多年にわたり、種々議論されてきたが、最近になって Schwimmer¹⁵⁾は膵臓アミラーゼと *Aspergillus oryzae* のマルターゼとの協力により比較的迅速完全に小麦デンプンを糖化し得ることを見出し、また一方 Sandstedt¹⁶⁾は特別に生デンプン消化因子を考慮している。

わたしたちの実験では、ながいも汁液中のアミラーゼ単独では、生デンプンを消化する力は比較的弱いことが判明したが、膵臓アミラーゼとの関係や、生デンプン消化因子の作用条件などについて、なお問題が残されているといえよう。

要 約

ながいも汁液のアミラーゼ作用を糊精化力と糖化力の両面から検討して次の結果を得た。

1. ながいも汁液のアミラーゼ作用を他のいも類汁液のそれと比較した。糊精化力は堀取直後はあまり強力なものではなく、さつまいも汁液よりやや劣る。糖化力もさつまいも汁液よりやや劣り、とくに初期反応が弱い。

2. ながいも汁液のアミラーゼ作用を、収穫直後のいも（新しいも）と1年間貯蔵したいも（旧いも）について比べた。新しいもと旧いもの糖化力はほとんど変わらないが、糊精化力は旧いものは新しいもの約8倍である。

3. ながいも汁液を酸熱処理して α アミラーゼを破壊して糖化力を測定して、新しいもと旧いものアミラーゼ組成をしらべた。ながいものアミラーゼは大部分 α 型より

なるが、とくに旧いものは β 型が少く、ほとんど α 型からなっている。

4. ながいも汁液の糊精化作用をほぼ純粋なアミラーゼ標品とヨウ素呈色を比較し、 α アミラーゼと β アミラーゼの混合していることを確認した。

5. ながいも汁液の生デンプンに対するアミラーゼ作用をしらべた。ながいも汁液単独では生デンプンを消化する力は、とくに強力なものでなく、さつまいも汁液よりも弱いことがわかった。

なお本実験は伊藤郁子、菅江和子、長谷川明子の諸氏の助力を得たことを附記して謝意を表する。

文 献

- 1) 坂入和彦, 岡啓次郎: 立正学園女子短期大学紀要, 1, 27. (1958)
- 2) R. M. SANDSTEDT, et al: *Cereal. Chem.*, 14, 17, (1934)
- 3) 片山崑: 菓誌, 315, 446 (1908)
- 4) 府中きみ: 家政学雑誌, 2. (1), 4 (1951)
- 5) 大場互爾子: 立正学園女子短期大学研究報告集, 43 (1956)
- 6) 大谷武夫: 実験酵素化学, 343 (1944) 南山堂
- 7) 萩原文二: 実験化学講座, 24, 282 (1958) 丸善
- 8) 田川隆, 岡沢養三, 酒井隆太郎: 寒地農学, 2, 39 (1948)
- 9) 伊藤良二: 化学実験学, II, 12, 676 (1943) 河出
- 10) 高岡研一, 東尾方秋: 農化, 23, 140 (1949)
- 11) 二国二郎: 澱粉化学, 406 (1957) 朝倉
- 12) 同 上 408
- 13) 村松敬一郎, 富金原孝: 農化, 28 456 (1954)
- 14) 逸見文夫, 友枝幹夫: 農化, 16, 381 (1943)
- 15) S. SCHWIMMER; *J. Biol. Chem.*, 156, 203 (1937)
- 16) R. M. SANDSTEDT; *J. Biol. Chem.*, 14, 605 (1937)

岡 啓 次 郎	本学専任教授	食品化学専攻
坂 入 和 彦	本学専任講師	化学専攻
島 田 慶 子	本学研究生	