

# 研究報文

## 大根のアミラーゼについて

足立 晃太郎\*  
 霊山 満佐子\*\*  
 小林 香子\*\*\*

### 緒言

Amylase は唾液、腺液、血液、麦芽、高等植物の貯蔵器官、酵母、菌類等、動植物界に広く存在する澱粉分解酵素である。

大根が Amylase を含有することは既知の事実であり、大根 Amylase に関する研究は佐伯<sup>1)</sup>、大島及び板谷<sup>2)</sup>、宮尾<sup>3)</sup>、加藤及び井上等によりその存在が証明されている。

筆者は大根 Amylase の諸性質を明らかにするべく大根汁の澱粉糊精化力及び糖化力の測定、貯蔵中の変化、加熱処理及びpHの影響を研究し、さらに作用時間の変化による澱粉の分解度の変化を知るために加水分解産物の平均重合度を測定し、一方 paper chromatography により、Amylase の澱粉分解産物の検索を試みた。これと並行して麦芽抽出液による同種実験を行い、特に深く研究されている麦芽 Amylase と比較することにより、大根 Amylase の性質を追求し、又麦芽においては、Ford, Guthrie (1908) 以来認められた Zymogen amylase についても研究を行った。

尚、大根 Amylase 純粋物の抽出を試みたのであるが抽出物が酵素力を消失して、的確な結果が得られなかつたことは残念である。

### 実験の部

#### 試料

大根は京都市近郊において栽培された美濃早生大根の新鮮物を使用した。

麦芽は朝日麦酒会社吹田工場より入手した乾燥麦芽を粉末にして使用した。

試料として使用した大根及び麦芽の水分は次の如くである。

大根 麦芽  
 水分含有量% 95.41 6.44

#### 酵素液の調製

大根は大根おろしでおろし濾過して濾液を酵素原液として実験目的に応じ適宜稀釈して用いた。

麦芽は池宮の方法により、2.55gを25ccの水で40°Cにおいて1時間抽出後遠沈し残渣をさらに25ccの水を加えて40°Cで1時間抽出した後遠沈し、両液を合して酵素原液とした。

#### 1 澱粉糊精化力及び糖化力の測定

Amylase 試験法に従つて測定を行つた。但し酢酸緩衝液は大根においてはpH5.5のものを、麦芽においてはpH5.0のものを使用した。

##### (1) 澱粉糊精化力の測定

本試験における酵素液の澱粉糊精化力Dは試料無水物1gに対する値で表わした1。

##### (2) 澱粉糖化力の測定

本試験においては規定の反応速度恒数Kを得るために酵素原液25ccに水を加えて全容を100ccにした稀釈液1ccを10分間反応させた。従つてKは試料無水物12mgに対する値である。尚、麦芽糖の定量は Bertrand 法によつた。

##### (3) 貯蔵による大根汁の酵素力の変化

20日間、室温に放置した大根汁の澱粉糊精化力及び糖化力の変化を調べた。

##### (4) 実験結果及び考察

(1) 及び(2)の結果を表にすると第1表の如くである。

第1表

	精化力 $D_{30'}^{40^\circ}$	糖化力K (37°10')
大 根	173.5	0.00659
麦 芽	1152.0	0.00928

第1表の結果によれば、糊精化力は大根は麦芽に比して著しく小であり、糖化力は大差ないことが認めら

\*本学教授 \*\*本学副手 \*\*\*昭和31年度本学卒業生

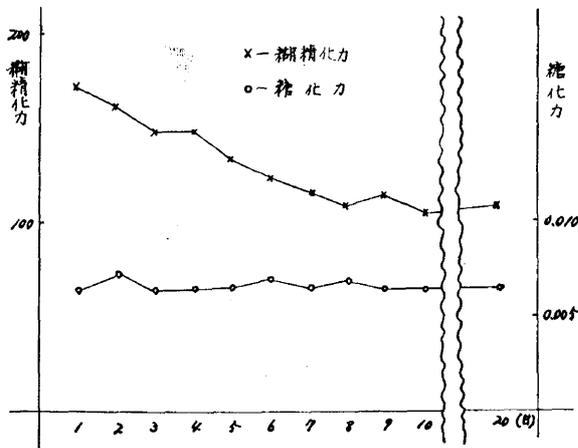
れる。

R. Kuhn, 二国等<sup>8)</sup>は澱粉を加水分解する時、負に変旋光を示す分解物( $\alpha$ -Configurationのもの)を生成する Amylase と、正に変旋光を示す分解物( $\beta$ -Configurationを有するもの)を生成する Amylase<sup>9)</sup>の二種類に大別されることを提唱している。Ohlsson<sup>10)</sup>は麦芽のAmylaseの中、Dextrinogenic amylaseがKuhnの命名法による $\alpha$ -amylaseに相当し、Saccharogenic amylaseが $\beta$ -amylase<sup>(11)</sup>に相当することを見出し、さらに Myrbäck は麦芽の Dextrinogenic amylase を作用させる途中の変旋光の方向と大きさを測定すると同時に、生成物である Dextrin, Maltose及びGlucose を分離定量して、これらがいずれも $\alpha$ -Configurationで遊離されることをたしかめ、一方未発芽穀粒の $\beta$ -amylaseはMaltoseのみを遊離し、しかも変旋光の方向が正に向うため、Kuhnの意味で真の $\beta$ -amylaseであることを示した。又、一方植物性 Amylase の多くは $\beta$ -amylaseであることと考えると、大根 Amylase は主として $\beta$ -amylaseからなり、 $\alpha$ -amylaseは含有量が少いものと考えられる。

次に貯蔵による大根汁の酵素力の変化についての実験結果に第2表及び第1図の如くである。

第2表

貯蔵日数	糊精化力 $D_{30}^{40}$	糖化力K(37°C)
1	173.5	0.0065
2	161.3	0.0072
3	148.7	0.0065
4	148.7	0.0065
5	130.2	0.0065
6	122.5	0.0070
7	115.6	0.0065
8	109.5	0.0070
9	115.6	0.0065
10	104.3	0.0065
20	109.5	0.0065



第2表及び第1図の結果より、糊精化力は20日間で約36%の減少をみるが、糖化力は全く変化しないことを認めた。

II Amylase の糊精化作用並びに糖化作用に及ぼす加熱処理およびpHの影響について

(1) 加熱処理の影響

酵素原液を 60°C, 70°C, 80°C, 100°C, の各温度においてそれぞれ10分間加熱し、後、急冷して熱処理酵素液とした。但し大根の酵素原液は加熱により沈澱を生じたため、濾過してその濾液を用いた。

酵素力の測定はIの方法に従ったが、糖化力は 37°Cにおいて30分間反応させて生成した麦芽糖を定量しこの値をもって表わした。

(2) pHの影響

酵素原液25ccにN/10HClを大根では2cc, 1cc, 0.55cc, 0.5ccを、麦芽では0.5cc, 0.1cc, 0.09cc, 0.05ccをそれぞれ加えて、pHを3.9, 3.0, 2.6, 1.6としこれに水を加えて全容を50ccとしこれを酵素液とした。酵素力の測定はIの方法に従った。

(3) 実験結果及び考察

(1)及び(2)の結果は第3表及び第4表に示す如くであり、これをグラフに表わすと第2図及び第3図の如くである。但し糊精化力Dは試料無水物1gに対する値であり、糖化力は37°Cにおいて30分間反応させた時の生成麦芽糖量を試料無水物1gに対して表わした値である。

第3表 Amylase の澱粉糊精化力及び糖化力に及ぼす加熱処理の影響

加熱温度	大 根		麦 芽	
	糊精化 $D_{30}^{40}$	糖化力(生成麦芽糖量g)	糊精化 $D_{30}^{40}$	糖化力(生成麦芽糖量g)
—	173.5	1.068	867.7	3.138
60°C	148.7	—	867.7	2.204
70°C	131.8	—	548.1	0.906
80°C	115.6	—	—	—
100°C	115.6	—	—	—

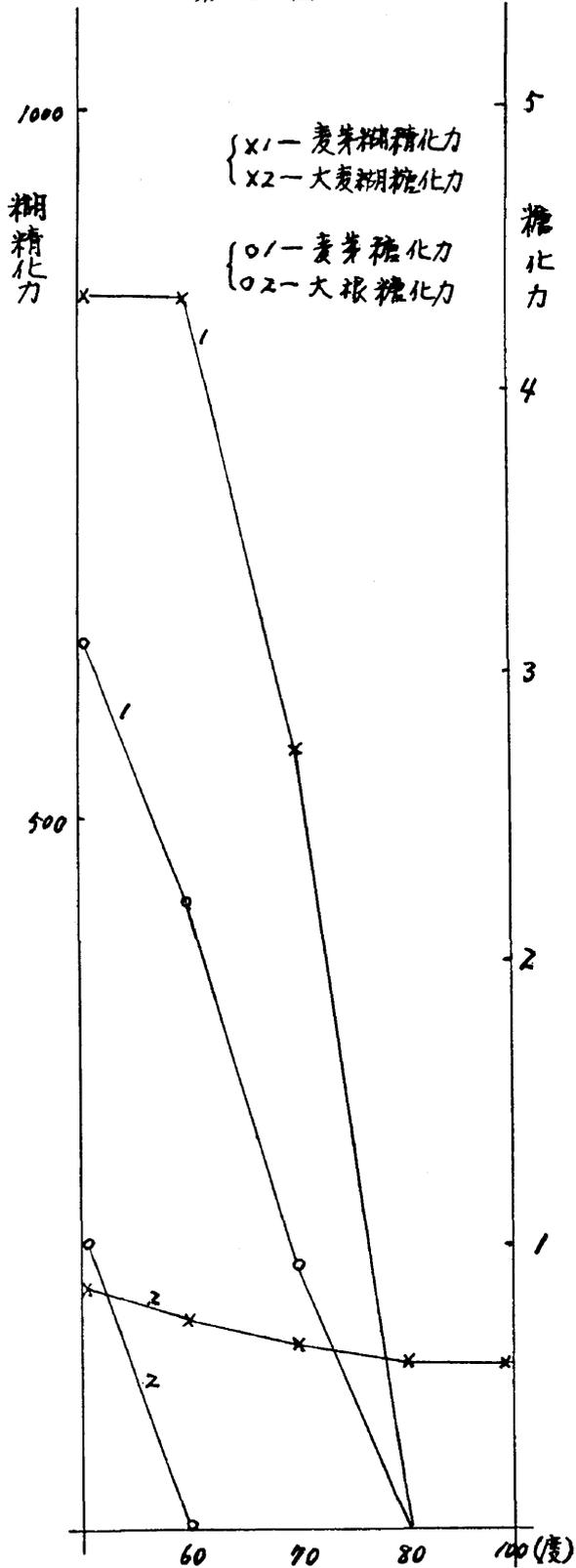
第4表 Amylase の澱粉糊精化力及び糖化力に及ぼすpHの影響

N/10HCL添加量(cc)	pH	大 根	
		糊精化力 $D_{30}^{40}$	糖化力(g)(生成麦芽糖量)
—	6.5	115.6	1.388
0.5	3.9	86.5	1.336
0.55	3.0	74.2	1.276
1	2.6	61.1	—
2	61.6	1.1	—

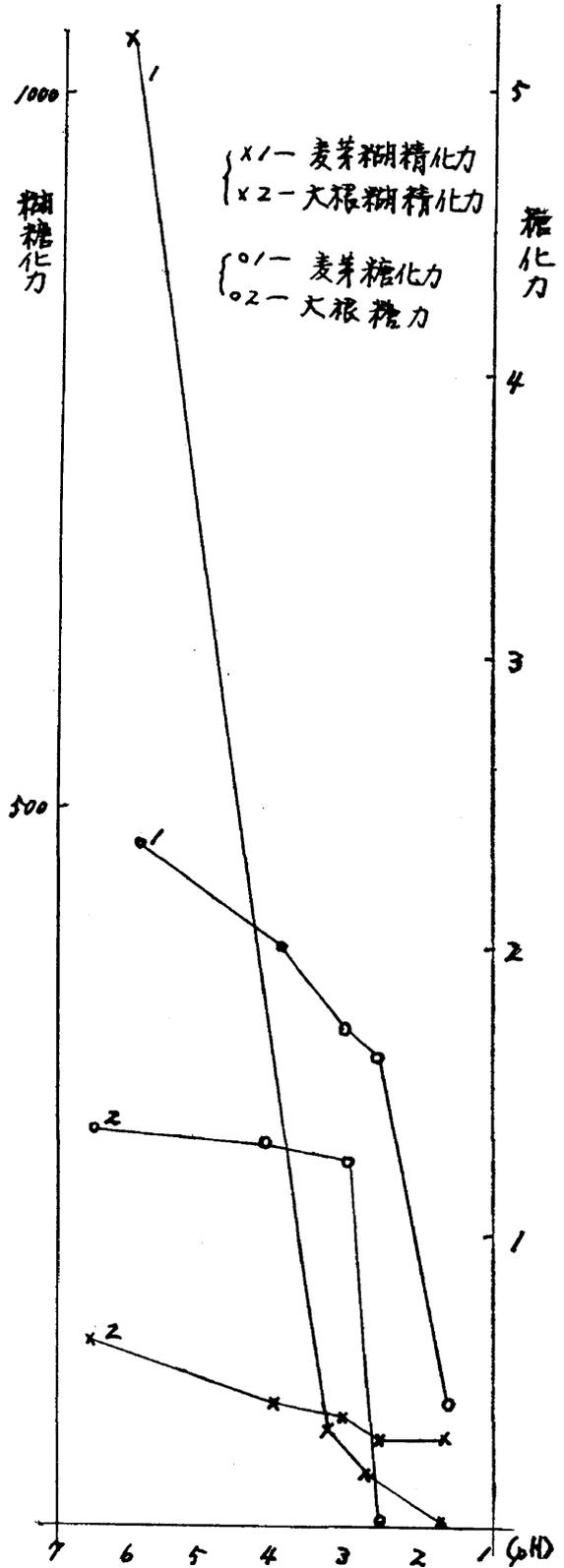
麦 芽 11頁第4表の続き

—	5.9	1040.0	2.375
0.05	3.9	260.0	2.050
0.09	3.2	68.0	1.740
0.1	2.6	37.4	1.658
0.5	1.6	—	0.427

第 2 図



第 3 図



以上の結果によれば、麦芽抽出液は80°Cにおいて10分間処理した場合、糊精化力、糖化力共に消失しているのに対し、大根汁の糊精化力は66%保持されている。大根汁の糊精化力は酵素液を該温度に30分間熱し

た場合も同様であった。又、麦芽抽出液の糊精化力は100%、糖化力も70%保持されている60°Cにおいて、大根汁の糖化力は消失している。一方、麦芽抽出液の糊精化力がN/10HCL添加によるpHの減少に伴って著しく減少し、pH1.6で全く消失しているのに対し大根汁はpH1.6において48%の減少をみるのみである。糖化力は麦芽抽出液で保持されているpH2.6において、大根汁では消失することを認めた。これはOhlsson<sup>10)</sup>が麦芽抽出液をN/10HCLにて酸性に保った場合糊精化力は減少し、糖化力は減少せず、反対に加熱処理によっては糖化力が著しく減少し糊精化力は殆んど減少しないことを認めているのにほぼ一致するが、大根汁 Amylase は麦芽抽出液 Amylase に比較して糖化作用は加熱により著しく害され、又、強塩酸酸性においても作用力を失うが、糊精化作用は加熱により殆んど害されず、酸によっても著しい影響はうけないと考えられる。

III Amylase作用時間変化による澱粉分解産物の変化

酵素液の作用時間を変化した場合の澱粉分解産物の変化をみるために反応液の平均重合度を測定した。

(1) 澱粉分解産物の平均重合度の測定

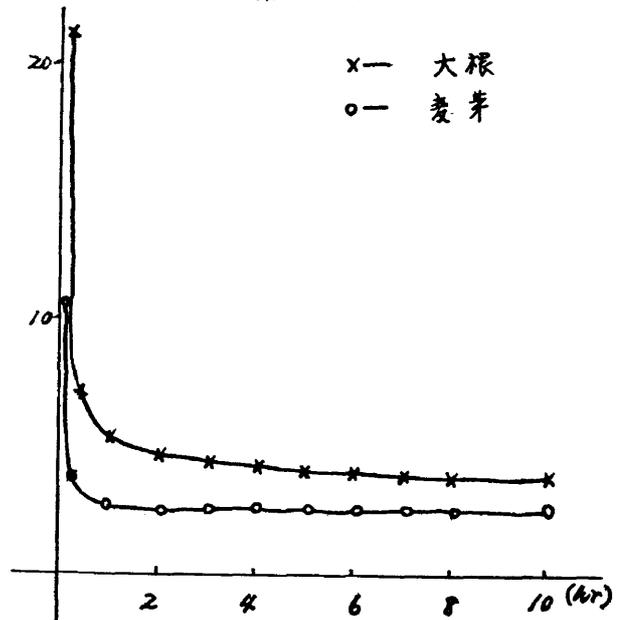
Meyer<sup>12)</sup>の方法により新しく調製した1%可溶性澱粉液 25cc を 50cc の Erlenmeyer flask に採り、酢酸緩衝液10ccを加えて37°Cに保ち、酵素原液 1 cc を加えて一定時間作用させた。N-HCL 2 cc を加えて酵素作用を止め、NaOH 溶液で pH 7 とし水を加えて全容を100ccとし、その20ccについて Bertrand 法により還元力を求めた。その後 100cc 中の50ccを採り25%HCL 5 cc を加えて3時間加水分解した後、微酸性となるまで10% NaOH を加えて全容を100ccとし、その20ccについて Bertrand法により還元力を求めそれに0.9を乗じた値を分解前の還元力で除した値をもって平均重合度とした。

(2) 実験結果及び考察

第5表 澱粉分解産物の平均重合度

作用時間	大 根	麦 芽
5 min	21.43	6.56
10	8.08	3.82
30	7.35	2.94
1 hour	5.20	2.72
2	4.89	2.60
3	4.68	2.52
4	4.39	2.52
5	4.00	2.60
6	3.92	2.60
7	3.92	2.43
8	3.92	2.60
10	3.92	2.60

第 4 図



第5表の結果によれば、大根汁 Amylase 及び麦芽抽出液 Amylase による澱粉の分解は短時間に急速に行われ、これをグラフに表わすと第4図の如き曲線となる。

大根汁の場合平均重合度は約8位までに急激に減少し、次いで徐々に4に近づき、3.92となるに至って以後は減少が認められない。即ち作用時間6時間で分解の限界に達したと考えられる。麦芽抽出液の場合は大根汁の場合よりも平均重合度の減少は分解の初期において著しく、終末点における平均重合度も低いことが認められる。

これは麦芽抽出液の方が大根汁よりも分解が進んでいることを表わすものである。

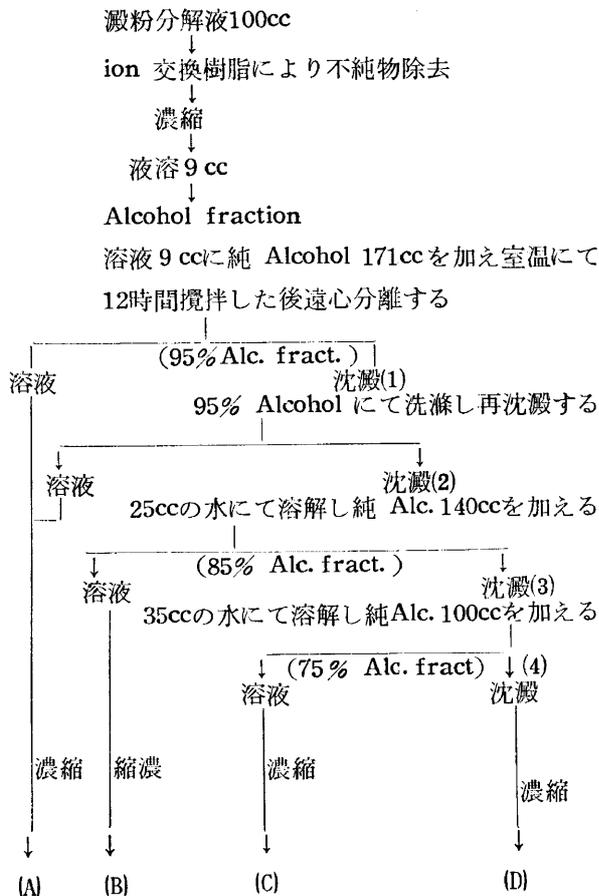
これより、Amylase 作用時間による澱粉分解産物の変化を平均重合度で表わすと双曲線に類似した曲線となる。又、大根汁 Amylase は麦芽抽出液に比較して分解度が低く、分解にも時間を要することを認めた。

IV Paper chromatography による澱粉分解産物の検索

(1) 試料の調製

50ccのErlenmeyer flask 2 個に、それぞれ可溶性澱粉液25cc を採り酢酸緩衝液 10ccを加えて37°Cに保ち、酵素原液 1 ccを加えて4時間作用させた。後、N-HCL 2 cc を加え酵素作用を止めて、NaNO溶液で pH 7 とし両液を合し全容を100ccとして ion 交換樹脂により不純物を除去した。次にDimler<sup>13)</sup>及び富金原<sup>14)</sup>村松等の方法を参照して第6表の如く操作を行い、(A), (B), (C), (D)の4 fractionに分別して用いた。

第六表



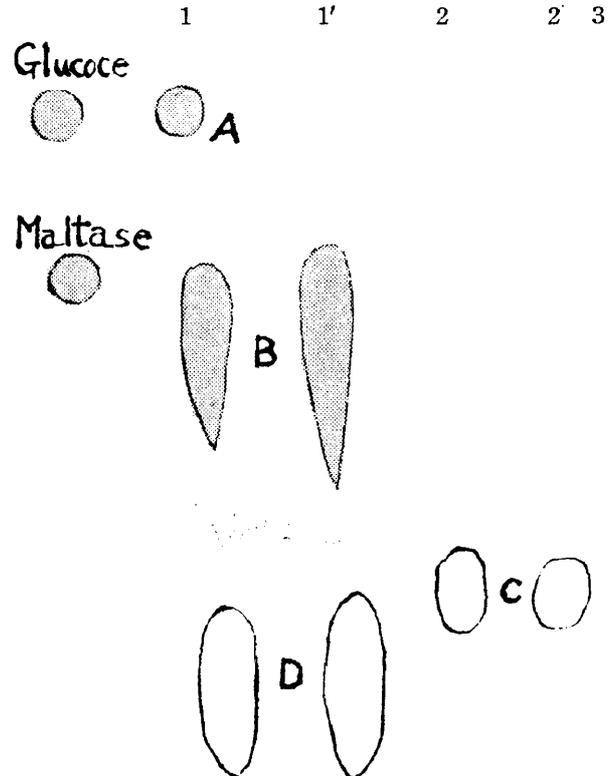
(2) 検出方法

展開法 多重展開法 (4重展開)<sup>(14) (15)</sup>  
 吸着剤 東洋濾紙No. 50 40cm × 40cm  
 展開溶媒 n-Butanol : Pyridine : Water (3 ; 2)  
 ; 1.5)<sup>(14)</sup>  
 発色剤 Anilin hydrogen phthate<sup>(14) (15)</sup>  
 展開時間 12hour  
 展開温度 25°C  
 発色温度 125°C  
 (3)検出結果

第五図 作用時間4時間における澱粉分解産物のPaperchromatogram

1, 2, 3, 4 : 大根汁Amylase作用,  
 1, 1' : fraction(A). 2, 2' : fraction(B)  
 1', 2', 3', 4' : 麦芽抽出液Amylase 作用  
 3, 3' : fraction(C), 4, 4' : fraction(D)

第5図



第7表 澱粉分解産物のRf値

	検出したSpotのRf値 4重展開		対照(A. Jeans. 富金原)Rf値 4重展開
Spot a	0.72	Glucose	0.75
Spot b	0.58	Maltoe	0.60
Spot c	0.36	Pentose	0.35
Spot d	0.32	Hexaose	0.30

第5図に示す如く、大根ではa, b, c, dの4種のspotを、麦芽ではb, c, dの3種のspotを検出した。各spotのRf値は第7表に示す通りであり、A. Jeanes及び富金原、村松等のRf値と対照して、spot a, bはそれぞれ Glucose, Maltoseであることを純粋物と対照試験を行った結果確認し、spot c, dは、Pentose, HexaoseのRf値とほぼ一致するところから、これらのOligosaccharideであると推定した。

(4) 実験結果及び考察

Paperchromatographyにより、大根汁 Amylase及び、麦芽抽出液 Amylase の澱粉分解産物として Maltose 及びPentose, Hexaose の Oligosaccharide を検出した。

大根汁 Amylase による澱粉分解産物の Paper chromatogram に検出された Glucoseは、大根汁自体にGlucose を含有するため、分解によるものか否か確認出来ない。他の分解産物は大根汁 Amylase 麦芽抽出液 Amylase 共に差異のないことを認めた。

## V Zymogen amylase の測定

## (1) 実験方法

4) 池宮の方法により、大根100gを大根おろしでおろし、濾過し残渣を25ccの水を加え40°Cにおいて1時間放置後濾過し、残渣に1% papain 溶液 25cc を加え35°Cにて20時間作用させて濾過し、残渣に25ccの水を加えて洗い濾液を合して酵素液とした。同時に麦芽粉末4.88gに水25ccを加え40°Cに2時間放置した後、遠沈し残渣をさらに40°Cにて1時間放置し後遠沈し、残渣に1% papain 溶液 25cc を加え大根同様に操作して酵素液を作り酵素力を測定して、水に不溶性の Zymogen amylase に由来した Amylase とした。

測定法は1に準じ、糖化力は37°Cにおいて10分間反応させた後生成した麦芽糖量をもって表わした。

## (2) 実験結果及び考察

Zymogen amylase の測定結果は第8表の如くであり、糊精化力Dは試料無水物1gに対する値、糖化力は試料無水物1gに対する生成麦芽糖量である。

第8表 Zymogen amylase の酵素力

	大 根	麦 芽
糊精化力 $D_{37}^{40}$	31.9	135.8
糖化力 (g) (生成麦芽糖量)	—	0.781

大根の Zymogen amylase は第8表の結果によれば、糖化力はなく、糊精化力は大根汁 Amylase の18.3% あることを認めた。尚、麦芽の Zymogen amylase は糖化力は麦芽抽出液 Amylase の26%、糊精化力は11.7%である。

## 総 括

筆者は、大根 Amylase の諸性質を明らかにすべく、大根汁の澱粉糊精化力及び糖化力を測定し、又、大根汁の貯蔵による酵素力の変化及び、加熱処理、pH による影響を研究し、さらに作用時間の変化による澱粉の分解度を知るため加水分解産物の平均重合度を測定し、一方 Paper chromatography による加水分解産物の検索を試みた。又、Zymogen amylase についても同時に麦芽抽出液による同種実験を行い、麦芽 Amylase と大根 Amylase を比較することによって大根 Amylase の性質を追求した。実験結果を要約すれば次の如くである。

- (1) 大根 Amylase は他の植物性 Amylase と同様、主として  $\beta$ -amylase からなり、 $\alpha$ -amylase は含有量が少いものと考えられる。
- (2) 大根を室温に貯蔵した場合、糊精化力は除々に減少し、20日で約36%の減少をみるが、糖化力は全く変化せぬことを認めた。
- (3) 大根汁 Amylase は麦芽抽出液 Amylase に比して糖化作用は加熱により著しく害され、又、強塩酸酸性においても作用力を失うが、糊精化作用は加熱により殆んど害されず、塩酸によっても著しい影響はうけない。
- (4) 大根汁 Amylase 及び麦芽抽出液 Amylase の作用時間の変化を平均重合度で表わすと、双曲線に類似した曲線となる。又、大根汁 Amylase は麦芽抽出液 Amylase と比較して分解度が低く、分解にも時間を要する。
- (5) 大根汁 Amylase 及び麦芽抽出液 Amylase の澱粉分解産物として、Maltase 及び Pentose, Hexose の Oligosaccharide を認め、大根汁 Amylase, 麦芽抽出液 Amylase 共にその分解産物に差異を認めない。
- (6) 大根の Zymogen amylase は糖化力は全く無く、糊精化力は大根汁 Amylase の18.3%あることを認めた。

## 参 考 文 献

- (1) 佐伯 矩：細菌学雑誌 113, 241~252
- (2) 大島幸吉, 板谷真一, 宮尾侃：札幌農林学会誌 20, 119~128 (1929).
- (3) 加藤正吉, 井上憲次：栄養研究所報 7, 13 (1934).
- (4) 池宮正行：農芸化学会誌 30, 131~134 (1956).
- (5) 日本薬学会編：衛生試験法 396 (1955).
- (6) 日本薬学会編：衛生試験法 399 (1955).
- (7) 日本薬学会編：衛生試験法 28 (1955).
- (8) R. Kuhn : Ber., 57, 1965 (1925); Ann., 433, 1 (1925),
- (9) E. Ohlsson : Z. physiol. Chem., 189, 17 (1930).
- (10) K. Myrbäck : Biochhm. Z., 307, 140 (1941).
- (11) 二国二郎, 不破英次：農芸化学会誌 26, 154 (1952).
- (12) K. H. Meyer : Advance in Colloid Science

- (1942).
- (13) R. J. Dimler, R. C. Bachman, H. A. Davis ; *Cereal. Chem.* **27**, 488 (1952).
- (14) 富金原孝, 村松敬一郎 : 農芸化学会誌 **26**, 583 (1952).
- (15) 左右田徳郎, 江上不二夫 : 多糖類化学101 (1955).
- (16) A. Jeanes, C. S. Wise, R. J. Dimler : *Anal. Chem.* **23**, 415 (1951),