



# 麦芽アミラーゼに関する研究 : 大麦チモーゲン・アミラーゼに就いて (I)

西躰, 雄二郎  
麦林, 檜太郎  
片瀬, 正之  
吉岡, 邦明

---

## (Citation)

兵庫農科大学研究報告. 農芸化学編, 3(1):40-42

## (Issue Date)

1957-12

## (Resource Type)

departmental bulletin paper

## (Version)

Version of Record

## (JaLCD0I)

<https://doi.org/10.24546/81008174>

## (URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/81008174>



# 麦芽アミラーゼに関する研究

## 大麦チモーゲン・アミラーゼに就いて (I)

西舩雄二郎・麦林梢太郎・片瀬正之・吉岡邦明

### Studies on Malt Amylase

#### Part 1. Barley zymogen amylase. (I)

Yuujiro NISHITAI, Narataro MUGIBAYASHI, Masayuki KATASE and Kuniaki YOSHIOKA

休眠状態の穀実種子が発芽に伴って著しく酵素力を増大する現象は古くから知られているが、中でも各種醸造食品原料や医薬用として用途の広い大麦麦芽に就いては最も多くの研究が行われている。而してその酵素生成機構に就いては現在迄の所次の二説に大別出来る。即ち大麦の発芽中の代謝中間産物として新生されると云う合成説 (Lüers<sup>1</sup> (1936) 等) と未発芽大麦中に存在する水不溶、不活性の zymogen amylase が水可溶、活性の状態に変化されると云う活性化説 (Ford & Guthrie<sup>2</sup> (1908) 等) である。Ford 及び Guthrie は大麦をパパイン等の蛋白分解酵素を含む溶液で抽出すると amylase 収量が増加する事を最初に指摘し、その後パパイン処理によつて得られた amylase 量は、その大麦が発芽する事によつて到達する amylase 量に略々等しい事等より発芽に伴う amylase の増加は、休眠種子中に存在する水不溶、不活性の zymogen amylase が同時に生じた蛋白分解酵素的作用により活性の状態に変化された結果であると結論された。然し活性化説には蛋白分解酵素によつて起ると云うものの他に amylokinase 説 (Waldschmidt-Leitz & Purr<sup>3</sup> (1931)), sisto-eleuto substance 説 (Chrzaszcz & Janicki<sup>4</sup> (1933)), 還元作用説 (Sandegren & Klang<sup>5</sup> (1950)) 等種々あるが、何れも疑点無しとせず未だ確証を得るに到っていない。最近池宮氏<sup>6</sup> は嫌気状態に於ける大麦の自己消化により水溶性 free amylase が不溶性の zymogen amylase に移行し、その際 sisto substance 様物質が生成する事等を認めている。この様に未発芽大麦中には水可溶、活性の free amylase の他に水不溶、不活性の zymogen amylase が存在する事はも早疑問の余地が無いが、その本体並びに賦活機構に就いては、その単離、精製が行われて居らぬ許りでなく、真に水不溶、不活性なるか難溶又は可溶、不活性なるかも極めて莫然として居り、更に検討を加ふべき諸問題を含んでいる。吾々は種子発芽に伴う酵素の賦活現象を研究するに当り先ず zymogen amylase の性質に就いて検討した。

#### 実 験

##### 1) 反覆抽出

先に大麦麦芽の水抽出に於いて  $\alpha$ -amylase は比較的容易に抽出されるが  $\beta$ -amylase は稍々溶出され難く、数回反覆抽出する必要がある事を認めたので、未発芽大麦の zymogen amylase の性質をしらべるに当り先ず水及び 5% 硫酸加里溶液にて反覆抽出を行い、その挙動を見た。

試料大麦：カナダ六条種、愛知在来種、滋賀ゴールデンメロン種大麦を何れもウイレー衝撃式粉碎機により全粒粉とした。

Amylase 定量法：2% 可溶性澱粉緩衝液\* 20 ml, 水 9 ml を 30°C に保つた後酵素液 1 ml を加え Willstätter-Schudel 法により 30°C 60 分間に生成された無水 maltose 量を測定し、絶乾大麦 1 g が 30°C 60 分間に生成する無水 maltose の mg 数にて表した。

\*乾物量 10 g の可溶性澱粉 (武田) の懸濁液を沸水中に徐々に注入し、冷後酢酸緩衝液\*\* 20 ml 及び水を加えて 500 ml とし、toluene を飽和せしむ。

\*\*氷酢酸 120 ml, 酢酸ソーダ 272 g に水を加えて 1000 ml とする。pH 4.7。

i) 蒸留水反覆抽出：大麦粉末 2 g を 50 ml 容遠心管に採り、蒸留水 40 ml 及び toluene 1 ml を加え、30°C 定温器中に時々振盪しつつ 20 時間抽出後、4000 r.p.m. にて 10 分間遠沈、上澄液を濾過し、第 1 回目の free amylase の定量に供する。第 2 回目以後は各々前回の遠沈残渣を 10 ml の蒸留水にて軽く遠沈洗滌し、後蒸留水 37.5 ml (大麦粉末 2 g に約 2.5 ml の水が吸収される) を加え、同様に 30°C, 20 時間抽出後遠沈、上澄液を得る。以下同様にして 3, 4, 5 回反覆する。上述の処理中、蒸留水の代りに 0.5% パパイン (Merk 1:350) 溶液で 30°C, 20 時間抽出した濾液を total amylase の測定に供し、第 2 回目以後は各々 1, 2, 3, 4 回水抽出した残渣を軽く遠沈洗滌後、0.5% パパイン溶液で 30°C, 20 時間抽出し、各々 2, 3, 4, 5 回目の total

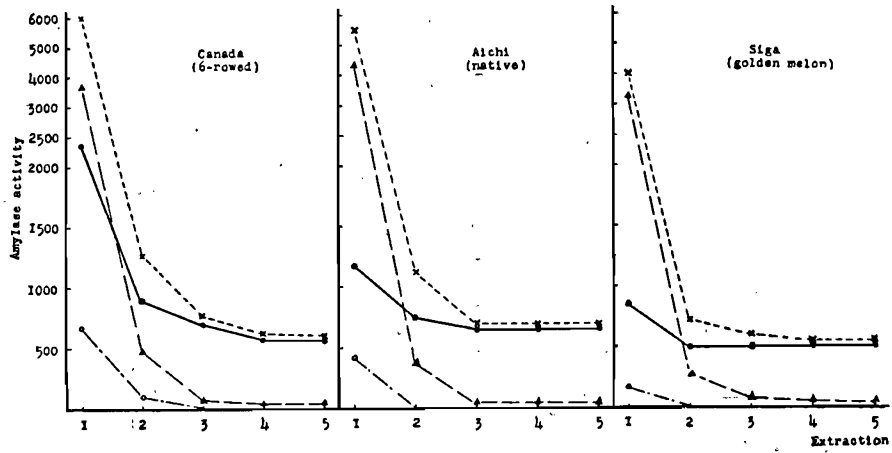


Fig. 1. Repeated Extraction of Barley Amylases with Distilled Water  
(Amylase activity: mgs. of starch converted to maltose by 1g. of barley in 60m at 30°C)

---x---x--- total-amylase      -▲- -▲- free-amylase  
-●- -●- zymogen-amylase      -○- -○- soluble zymogen-amylase

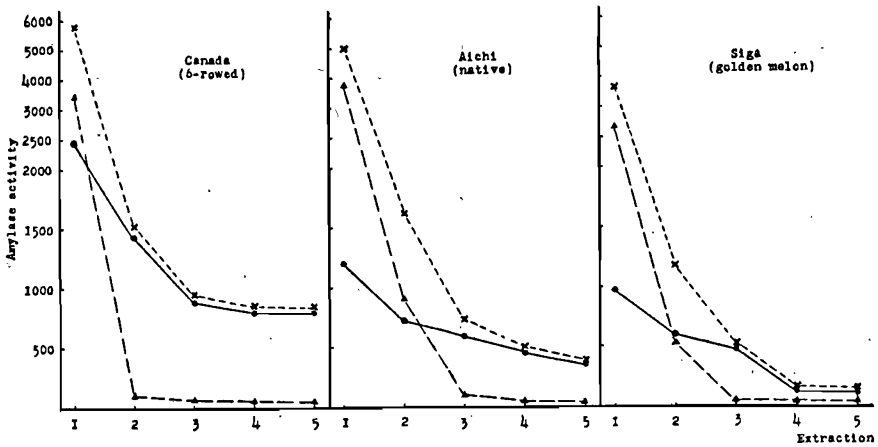


Fig. 2. Repeated Extraction of Barley Amylases with 5% K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> Solution  
(Amylase activity: mgs. of starch converted to maltose by 1g. of barley in 60m at 30°C)

---x---x--- total-amylase      -▲- -▲- free-amylase  
-●- -●- zymogen-amylase

Table 1. Pyridine Extraction of Barleys.

| Barleys                | Control |          | Pyridine extracted |          |
|------------------------|---------|----------|--------------------|----------|
|                        | Free    | Zy-mogen | Free               | Zy-mogen |
| Siga (native)          | 3272    | 2467     | 0                  | 2981     |
| Aichi (native)         | 2943    | 2160     | 0                  | 3247     |
| Osaka (native)         | 2770    | 2338     | 0                  | 3124     |
| Saitama (golden-melon) | 2898    | 1974     | 0                  | 2187     |
| Siga (golden-melon)    | 2506    | 2187     | 0                  | 2506     |
| Canada (6-rowed)       | 2404    | 3548     | 0                  | 3249     |
| America (2-rowed)      | 3071    | 2554     | 0                  | 2947     |

amylase 測定に供する。zymogen amylase は各々 total より free を減じて算出する。又可溶性 zymogen amylase は各々水抽出液に 0.5% 量のパパイン及び toluene を加え、30°C、20 時間放置後濾過し酵素液を得、上述の如くして算出する。尙酵素液は何れも 5~10 倍に稀釈して用いた。以上の方法で反覆抽出した結果は Fig. 1 に示す様に free amylase は抽出 2 回により略々完了し、zymogen amylase は大麦品種によつて多少の差異は有るが、第 2 回目には急に減少し(この傾向はカナダ六条種に顕著である)以後一定の値を示す。又抽出液中の可溶性 zymogen amylase はカナダ六条種に最も多く、概して第 1 回目の抽出液のみに存在する。

ii) 5% 硫酸加里溶液抽出: i) の蒸溜水の代りに 5% 硫酸加里溶液をもつて同様に実験した結果は Fig. 2 に示す様に稍々 zymogen amylase の溶出は良くなるが、大体水抽出の場合と類似の傾向を示した。

## 2). ピリジン抽出

未発芽大麦中の zymogen amylase をそのままの形で溶出し様とする試みは従来からも行われて来たが、何れも不成功に終っている。吾々も最初その目的でもつてピリジンによる抽出を試みた。

50ml 容遠沈管に大麦全粒粉 1g を採り、1N 硫酸で pH 5.0 とした 5% ピリジン溶液 (ピリジン 5g 当り 1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 40ml) 50ml を加え、室温にて時々攪拌しつつ 60 分抽出後、4000 r.p.m. 10~15 分間遠沈する。上澄部を棄て残渣を更に一回同様に処理し、後蒸溜水にて 3 回遠沈洗滌する。かくして得たピリジン処理大麦試料に蒸溜水又は 0.5% パパイン溶液を各々 48ml, toluene 1ml を加え、30°C、20 時間抽出し、各 free

及び zymogen amylase を測定した。又対照としてピリジン処理を行わない試料についても同様に行つた。その結果は Table 1 に示す様にピリジン処理によつて free amylase は完全に洗滌されも早残存していないが、zymogen amylase は依然溶出されず存在し、且つ対照よりも大きな値を示した。唯カナダ六条種のみは対照のものより少なく、此の事は前実験に於て認められた可溶性 zymogen amylase の多い事と関連していると思われる。

## 要 約

1. カナダ六条、愛知在来、滋賀ゴールデンメロン種の未発芽大麦粉末を反覆水抽出し、各段階に於ける free 及び zymogen amylase を測定し、zymogen amylase 中には水不溶、不活性のもの他に水可溶、不活性のものが存在する事を見た。
2. 未発芽大麦 7 種に就いてピリジン抽出を行い、完全に free amylase を含まない試料を調製し、各々の zymogen amylase 量を比較した。

(醸造学講座, 昭 32.8.31 受理)

## 文 献

1. LUERS: *Cereal Chem.* **13**, 153 (1936).
2. FORD & GUTHRIE: *J. Inst. Brewing.* **14**, 61 (1908).
3. WALDSCHMIDT-LEITZ & PURR: *Z. Physiol. Chem.* **203**, 117 (1931).
4. CHRZASZCZ & JANICKI: *Biochem. Z.* **265**, 260 (1931).
5. SANDEGREN & KLANG: *J. Inst. Brewing.* **56**, 313 (1950).
6. 池宮: 日農化. **30**, 131, 135, 138 (1956).

## Summary

1. Free and zymogen-amylase in the three varieties of ungerminated barley, Canada (6-rowed), Aichi (native) and Shiga (Goldenmelon), were extracted repeatedly; at each stage of extraction both free and zymogen-amylase were estimated. Consequently we found that there were two types of zymogen-amylases; one was, as had been reported, water-insoluble, inactive, and another water-soluble but inactive.

2. Preparing the samples completely free from free-amylase by the extraction of the 5% pyridine solution (pH 5.0) from the seven varieties of barley, we compared their amounts of zymogen-amylase respectively.

(Laboratory of Fermentation Technology)