(2) 黒麹アミラーゼの各種澱粉に対する糖化の難易を比較し、その難易が澱粉構造と関係があるらしい事を推定した。

終りに臨み、澱粉資料を惠與された中澤亮治博士、岩田久敬教授、福本壽一郎博士に感謝の意を表す。

- (1) 山崎, 上田: 昭和 23 年 4 月農學大會講演
- (2) 山崎, 上田: 昭和 24 年 4 月農學大會講演
- (3) 山崎, 上田: 昭和 25 年 4 月農學大會講演
- (4) G. WEICHSEL: *Planta*, 26, 28 (1936)
- (5) R. A. GORTNER: *Cereal Chem.*, 17, 378 (1930)
- (6) T. C. TAYLOR & R. T. SHERMAN: *J. Am. Chem. Soc.*, 55, 258 (1933)
- (7) S. B. SCHRYVER & E. M. THOMAS: *Biochem. J.*, 171, 497 (1923)
- (8) S. SCHWIMMER: *J. Biol. Chem.*, 156, 203 (1937)
- (9) R. M. STANDSTED: *J. Biol. Chem.*, 14, 605 (1937)
- (10) 澤村 眞: 食物化學, p. 296
- (11) D. H. COOK: *Ind. Eng. Chem., Anal.*, 9, 226 (1937)
- (12) 二國, 不破: 農化., 23, 60 (1949)
- (13) 二國, 不破: 農化., 22, 91 (1948)
- (14) K. H. MEYER: *Helv. Chim. Act.*, 23, 845 (1940)

Summary

1. Action of Black-koji-amylase on raw starch is specially stronger than that of Yellow-koji and Malt-amylase.
2. Raw starches of various origin are treated with Black-koji-amylase and their saccharification velocities are found to be in the following order:
Maize > Wheat > Acorn > Squill > Kuzu > Dog-tooth violet > Sweet potato > Oat bulbed lily > Lycoris > Brake > Snake gourd > Cycad > Yam > Potato

ケト酸よりアミノ酸の生成

中 村 定 市, 芦 田 淳 (大阪大學産業科學研究所)

昭和 25 年 4 月 11 日 受理

Studies on the Formation of Amino Acids from Keto Acids

By S. NAKAMURA and K. ASHIDA (Inst. Sci. Ind. Research, Osaka Univ)

生体内でアミノ酸が酸化される時は先ずアミノ酸よりケト酸を生ずるが、この機構に關しては古くから研究が行われた(1)(2)(3)(4)。その結果アミノ酸は脱水素されイミノ酸となり、之が無酵素的に加水分解されてケト酸とアンモニアになるとされている。又生体内でアミノ酸が合成される過程はこの逆反應即ちケト酸とアンモニアよりイミノ酸を生じ、之が還元されてアミノ酸を生ずるのであり(5)、この可逆反應に與る酵素は動植物界に廣く存在している。一方試験管中でも之と同様の反應、即ちケト酸がパラジウムの存在でアンモニアと水素によりアミノ酸が合成される事を KNOOP(6)が見出し、次いで AUBEL 等(7)も同様の事實を認めた。

MOZINGO(8)等はラネーニッケルが水素を吸着する事を認め、この水素を利用して種々の化合物を還元した。そこで著者等はケト酸とアンモニアの水溶液にラネーニッケルを添加して振盪すれば、常溫でアミノ酸が生成することを認めた。

ケト酸としては焦性葡萄糖とレヴュリン酸を用いたが、前者より アラニン、後者より γ -アミノヴァレリアン酸を生じ、収量はそれぞれ 78%, 34%であつた。

又大腸菌が蟻酸を分解して炭酸ガスと水素を生ずることが知られているが⁽⁹⁾、著者の一人⁽¹⁰⁾はラネーニッケルの存在でこの反応を行わせ、その際發生する水素で 2, 3 の化合物の還元を行つた。そこでこの水素を利用してケト酸よりアミノ酸の合成を行つた。即ち蟻酸とケト酸をアンモニアで中和し之にラネーニッケルを添加して煮沸すればアミノ酸が生成する事を認めた。

焦性葡萄糖を用いた場合アラニンの収量は 57%であつた。

實 験 の 部

(1) ラネーニッケルに吸着する水素による還元

試料：ケト酸として焦性葡萄糖（沸點 75°/25 mm）レヴュリン酸（150°/15 mm）を用いた。これらは夫々酒石酸⁽¹¹⁾、フルフリールアルコール⁽¹²⁾より製した。

ラネーニッケルの調製：5 g Ni-Al-合金を 25%苛性ソーダ溶液 25 cc にて展開し、80°の水浴中で 1 時間加温したる後傾斜により中性になる迄水洗した。

實驗方法：2%焦性葡萄糖水溶液 100 cc を反應フラスコにとり、一方 5% アンモニア溶液 100 cc を用いてラネーニッケル（容積を計つたもの）を反應フラスコに流し込み 8 時間室温で振盪した。反應後濾過一定量を取り、20%苛性ソーダ溶液 3~5 cc を加えて水蒸氣蒸溜により完全にアンモニアを溜去し、20%硫酸溶液で中和した後、濃縮一定容とする。其の一部を用いて Van Slyke 法によりアミノ態窒素を測れば Table 1 の如くである。尙酸は滴定によつて定量した。

Table 1.

	Sample (g)	Amino N (mg)	Yield (%)
Pyruvic acid †	1.91	236.08	78.6
〃	1.79	222.22	78.9
Levulinic acid	2.95	118.99	33.7
〃	2.65	112.32	35.3

アミノ酸の分離及び確認：ニッケルを濾去した反

應液にデメチルグリオキシムのメタノール溶液を加え逆流冷却器を附して液が無色透明になる迄水浴中にて加温する。冷却後濾過した液に、更に少量のデメチルグリオキシムを加えて濃縮し、メタノールを除去し放置すれば結晶が析出する。之を濾過後エーテルで過剰のデメチルグリオキシムを除去した後減壓濃縮乾固す

る。少量のメタノールにて未反應のケト酸を除去すれば白色塊を得る。焦性葡萄糖を用いた場合は之を水より再結すれば 295° で分解し dl アラニンに一致する。更に *p*-トルエンスルフォニール誘導體⁽¹³⁾ (138~139°) として確認した。即ち 1 g の試料を *N*-苛性ソーダに溶解し之にトルエンスルフォニールクロリドのエーテル溶液を加え 2~3 時間劇しく振盪する、水層を稀鹽酸でコンゴレッドに酸性となし、冷蔵庫中に放置すれば結晶が析出する。之を少量の 60%メタノールより再結すれば融點 138~139° の結晶を得る。

γ -アミノヴァレリアン酸は適當な誘導體なく、50%メタノールより再結すれば 204~205° で分解し、文獻によると 193°⁽⁴⁾、215°⁽⁹⁾で著者等のものはその中間であるが、恐らく本物質と推定する。

(1) 蟻酸鹽による還元

ラネーニッケルの製法：2.5 g Ni-Al 合金を 25%苛性ソーダ 15 cc で展開後 1 時間沸騰湯浴中で加熱し、

Table 2.

Exp. No.	Pyruvic acid (g)	Formic acid (g)	Acetic acid (g)	Amino-N (mg)	Yield (%)
1	1.30	0.65	—	117.14	57.5
3	1.68	0.65	—	150.74	57.5
3	1.68	—	—	41.29	15.5
4	2.13	—	—	49.35	15.2
5	2.13	—	1.44	61.98	18.5

アルカリを傾斜して除いて後水を加えて更に殆ど氣泡を生じなくなる迄湯浴中で加熱する。4 時間後前述と同様中性になる迄水洗する。

實驗方法：反應フラスコに 6.5%焦性葡萄糖 25 cc, 6.5% 蟻酸溶液 10 cc をとりアンモニアで中和した後蒸溜水 10 cc でラネーニッケルを流し込み、逆流冷却器を附して 9 時間加熱沸騰させる。反應後前述と同様にしてアミノ態窒素を定量すれば Table

2 の如き結果を得た。

即ち蟻酸を加えた場合 (実験 (1) 及び (2)) アミノ酸の収量は 57% であり, 焦性葡萄糖のみの場合 (実験 (3) 及び (4)) は 15% である。この差が蟻酸の分解によつて発生した水素により還元生成されたアミノ酸量である。実験 (1) 及び (2) は実験 (3) 及び (4) に比べアンモニウム・イオンが少い故実験 (5) では醋酸アンモニウムとしてアンモニウム・イオン量を実験 (1), (2) と同程度にした。

その結果収量は 18% であり, 実験 (3) 及び (4) と大差なかつた。

終始御指導を賜つた二國先生に深甚なる感謝の意を表する。尙研究費の一部は文部省科学研究費によつた。ここに記し厚く感謝する。

- (1) O. NEUBAUER: *Z. physiol. Chem.*, 67, 219 (1910)
- (2) F. KNOOP: *Z. physiol. Chem.*, 67, 489 (1910)
- (3) H. A. KREBS: *Z. physiol. Chem.*, 217, 191 (1933); 213, 157 (1933); *Biochem J.*, 29, 1620, 2077 (1935)
- (4) E. AUBEL: *Ann. physiol. physico-chim. biol.*, 9, 929 (1933)
- (5) H. NEBER: *Z. Physiol. Chem.*, 234, 83 (1935)
- (6) F. KNOOP und Hubt OESTERLIN: *Z. physiol. chem.*, 148, 294 (1925)
- (7) E. AUBEL et M. BOURGUEL: *Compt. rend.*, 186, 1844 (1928)
- (8) R. MOZINGO, C. SPENCER and K. FOLKER: *J. Am. Chem. Soc.*, 66, 1013 (1943); 66, 1859 (1944)
- (9) M. STEPHENSON and L. H. STICKLAND: *Enzym. forschg.*, 6, 139 (1937)
- (10) 芦田: 農化誌, 投稿中
- (11) 邦譯 *Org. Synthesis*, 517
- (12) 合成法集成, I, 41
- (13) E. W. MCCHESNEY and W. K. SWANN: *J. Am. Chem. Soc.*, 59, 1116 (1937)
- (14) J. TAFEL: *Ber.*, 19, 2416 (1886)
- (15) E. FISCHER and R. GROH: *Ann.*, 383, 371 (1911)

Summary

Amino acids were prepared by shaking an aqueous solution of ammonia and pyruvic acid or levulinic acid in the presence of Raney nickel at room temperature. The formation of amino acids is due to the action of hydrogen absorbed in Raney nickel. As the results, alanine and γ -aminovaleric acid were obtained respectively.

One of the authors⁽¹⁰⁾ has reported previously that ammonium formate is decomposed into hydrogen, ammonia and carbon dioxide, when heated in the presence of Raney nickel. Using this hydrogen, amino acids were prepared from keto acids. Namely, an aqueous solution containing ammonium salts of keto acid and formic acid was boiled in the presence of Raney nickel. Alanine was also obtained in this case.