標準飼料をあたえ9日間毎日0.5又は1.0gのL-シスチンを補足し、シスチンが泌乳量に感應しないことが判つた。但しシスチンは乳脂及びカゼインの分泌を軽度増加したが、この乳成分の増加には動物に0.5gシスチンを要したことになる。然し試験動物に対するシスチンの感應は餘り敏感でなく、従つてシスチンは酪農業に利用されるということは困難のように思われる。

本研究の實施にあたり御懇切な御教示をいただいた東大教授佐橋佳一博士、貴重なシスチンを多量惠與された日乃出食品工業株式会社社長伊地知廣氏、種々便宜をあたえられた本學附屬牧場長三村一博士及び山羊の飼育管理に熱心に協力せられた助手朝長誠至、山口正光君に深謝する。

尙研究費は文部省科學試驗研究費補助金によつた。

(本報告は昭和25年11月17日松山市で開催された日本農藝化學會大會で發表した。)

- (1) T. B. OSBORNE and L. B. MENDEL: *J. Biol. Chem.*, 20, 315 (1915).
- (2) M. WOMACK, K. S. KEMMERER, and W. C. ROSE: *J. Biol. Chem.*, 121, 403 (1937).
- (3) R. G. DAGGS: *J. Nutr.*, 9, 575 (1935).
- (4) J. R. HAAG, and L. D. WRIGHT: *Science*, 90, 158 (1939).
- (5) C. F. HUFFMAN, and C. W. DUNCAN: *J. D. Sc.*, 23, 559 (1940).
- (6) S. SURE: *Arkansas Sta. Bul.*, 425, 34 (1942).
- (7) 岩村: 日畜會報, 20, 58 (1949).
- (8) C. S. MARVEL: *Organic Syntheses*, 39 (1925).
- (9) O. FOLIN: *J. Biol. Chém.*, 8, 9 (1910).
- (10) H. TARVER, and C. L. A. SCHMIDT: *J. Biol. Chem.*, 130, 67 (1939).
- (11) W. C. ROSE, and E. E. RICE: *J. Biol. Chem.*, 130, 305 (1939).
- (12) W. C. ROSE, J. E. JULIUS, and W. J. HAINES: *J. Biol. Chem.*, 182, 541 (1950).

Summary

The effect of cystine administered *per os* on the milk secretion has been determined for the milk yields of twelve lactating goats. It has been shown that cystine is unable to stimulate lactation of the animals on the standard diet supplemented daily by 0.5 or 1.0 g. of L-cystine for nine days. This compound was indicated to be slightly capable of increasing milk-fat and casein, and the animals require only about 0.5 g. of cystine daily per head to initiate visible secretion of the milk constituents. Evidences have been presented which indicate that the response of the test animals to cystine is not highly sensitive, and that the substance seems not to be utilizable for dairy industry.

酵素による澱粉のヨード反應反轉現象に就て

(第6報) 澱粉の種類による反轉の型と甘藷澱粉の反轉に關與する成分

高岡研一、二國二郎(大阪大學産業科學研究所)

昭和26年2月1日受理

The Reversion of Starch-Iodine Color Reaction Caused by an Enzyme. Part 6. Reversion Types of Various Native Starches and Amylose-Precipitants Contained in Sweet-Potato Starch.

By Ken'ichi TAKAOKA and Zirô NIKUNI (Inst. of Sci. and Indust. Research, Osaka Univ.)

總 說

第4報⁽¹⁾に報告した如く、此の反轉現象は天然澱粉中に含まれるアミロース沈澱劑特に遊離の脂肪酸の量及び種類に従つて、各澱粉につき夫々特有の型式の反轉經過を示す。例えば遊離脂肪酸の含量の少い(0.004%)馬鈴薯澱粉では反轉後の青色は弱く、又脂肪酸の多い(0.68%)玉蜀黍澱粉では反轉後の青色が極めて強く、よく注意しないと途中でヨード呈色の吸収の頂點が移動して一時赤く見える事を見逃し易い。然るに甘藷澱粉(脂肪酸含量0.06%)では濃青、紫、褐、赤、淡青の反轉の經過が最もよく認められる。又梗米粉末に就ては玉蜀黍澱粉同様反轉後も強いヨード呈色を示すが、玉蜀黍澱粉に比して紫色が強い。

このように各種の天然澱粉では夫々特有の型の反轉を示すのであるが、之等の各種天然澱粉を SCHOCH 法⁽²⁾

に従つて 85% 熱メタノールで脱脂して得た脱脂澱粉は、原料澱粉の種類に拘らず、何れも反轉現象を示さなくなる (第4報⁽¹⁾ Fig. 5, Fig. 8 参照). 即ち反轉にはメタノール抽出によつて除かれる成分が重大な關係を持つてゐる事が明かである. 但し第4報⁽¹⁾ Fig. 8 に示した如く、脱脂玉蜀黍澱粉ではアミラーゼ消化後そのままヨード反應を檢すると無色であるが、消化液の一部を加熱急冷してヨード液を加えると青色を呈する. 之は本報實驗の部に記した如く、SCHÖCH 法で取り切れない脂肪酸もあり、アミロースが安定なミセルを作つてゐる爲である.

一方僅かしかアミロースを含まない糯米粉末、或は全くアミロースを含まないグリコーゲンでは如何に遊離脂肪酸その他のアミロース沈澱劑を加えても、殆ど或は全く反轉現象を示さない (第4報⁽¹⁾ 及び第5報⁽³⁾).

之等の關係を明かにする爲に本報に於ては各種脱脂澱粉と、澱粉からメタノールによつて除かれる成分との間の相互關係を精査した. 即ち一方に於いて各種天然澱粉の一定量を SCHÖCH 法に依りメタノール浸出し、この浸出物からメタノールを追出して抽出物の水懸濁液を作る. 他方浸出殘査を夫々の脱脂澱粉として使用する. 此の兩者を夫々元の量に相當するだけ加へ合せて澱粉糊を作り、之に常法に従い、*Aspergillus candidus* var. *amylolyticus* からの α -amylase 區分を作用させて反轉現象を檢した.

その結果、例えば甘藷澱粉の浸出物を脱脂甘藷澱粉に加えた場合には、勿論元の天然甘藷澱粉型の反轉を示したが、此の抽出物を他種の脱脂澱粉に加えた場合にも、全く天然甘藷澱粉の場合と同様の反轉を示した. 又馬鈴薯澱粉抽出物を加えた場合には、脱脂澱粉の種類には無關係に總て天然馬鈴薯型の反轉を示した. 即ち普通の澱粉では充分量のアミロースが存在する爲に、加えるアミロース沈澱劑の量及び種類に従い、螺旋ミセルを作るアミロースの量が定つて反轉の型式が決定する事が明かとなつた.

然るに脱脂糯米粉末に限り、何れの種類の天然澱粉抽出物を加えても、天然の糯米澱粉型の反轉、則ち極く弱い反轉後の青色を示すのみである. 之は反轉現象の主因子たるアミロース成分が糯米には極めて微量しか存在しない爲に、如何に多量のアミロース沈澱劑を加えても、之に應じて生ずるアミロースの螺旋ミセルの量が限られているからである. 一方糯米粉末中には粳米と殆ど同様の脂肪酸その他が含まれてゐると見えて、此の抽出物を他種の脱脂澱粉に加へれば、天然粳米粉末の場合と同様の極めて強い反轉後の青紫色を呈する.

之等の各種脱脂澱粉と澱粉抽出物との相互關係を圖示すると第1圖の如くである.

Fig. 1. Reversion Types of Various Pastes formed by Combination of Methanol Extracts of Native Starches and Their Defatted Products.

Methanol extracts added Defatted starches	None	Potato starch extract	Sweet-potato starch extract	Corn starch extract	Glutinous-rice powder extract
Potato starch	No reversion	Potato type	Sweet-potato type	Corn type	Rice type
Sweet-potato starch	No reversion	Potato type	Sweet-potato type	Corn type	Rice type
Corn starch	No reversion	Potato type	Sweet-potato type	Corn type	Rice type
Glutinous-rice powder	No reversion	Pale glutinous-rice type	Glutinous-rice type	Glutinous-rice type	Glutinous-rice type

此の反轉現象の原因の一つを爲すアミロース沈澱劑として、純オレイン酸、トルオール、クロロフォルム等の影響を調べたが⁽¹⁾、上述の天然澱粉のメタノール浸出物はメタノールを追出すと白濁した液となり、之をエーテルに移し水分を除き更に完全にエーテルを追出すと褐色の油狀物となる. TAYLOR, LEHRMAN⁽⁴⁾の報告にもある如く、その主成分は遊離脂肪酸及び中性脂肪であると考えられる. 依つて數種の脱酸精製中性脂肪を脱脂澱粉糊に加えて反轉現象を檢したが、殆ど反轉を示さなかつた. 之に反して多數の精製脂肪酸を脱脂澱粉糊に加えて試験した結果、何れも著しい反轉現象を呈し、遊離脂肪酸が沈澱劑の主成分である事を確認した. 此の遊離脂肪酸の影響に就ては續報で詳述する.

次に甘藷澱粉の熱メタノール浸出物中、エーテル可溶部を野田万次郎氏の御厚意により paper chromatogram⁽⁵⁾に依り檢索の結果、普通の高級脂肪酸以外に水溶性のオキシカルボン酸の存在を推定し、且つ此のエーテル可溶部が、TAYLOR 等の fat-by-hydrolysis 法⁽⁶⁾⁽⁷⁾よりも寧ろ高い脂質含量を與える事から (fat-by-hydrolysis 法では 0.06%, SCHÖCH 法⁽²⁾では 0.11%), 甘藷澱粉の場合には、普通の遊離脂肪酸以外に此のヨード反應反轉に關係する物質の存在を豫想しなければならない. 依つて次の如く、此の部の探索を行つた.

即ち、天然甘藷澱粉を第2圖の如く處理して、其の處理物を各脱脂甘藷澱粉糊に加へ反轉を檢した結果、反轉

に關する物質は順次アルコール、エーテル、アセトン可溶部に全部移る事を知つた。

Fig. 2. Amylose Precipitants in Native Sweet-Potato Starch.

更に故小瀬伊俊博士⁽⁸⁾が甘藷から分離されたヤラピン*** から、小瀬⁽⁸⁾、朝比奈⁽¹¹⁾兩氏の報告に従つてヤラピン酸及びヤラピノール酸を分離した。ヤラピノール酸 (jalapinic acid) は $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CHOH}(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ の構造式⁽¹¹⁾を有するオキシ飽和脂肪酸であり、水に比較的溶け難いが、ヤラピン酸はヤラピノール酸のグルコサイドでよく水に溶ける。

此の兩者を常法通り脱脂甘藷澱粉糊に加えて反轉現象を検した結果、水溶性のヤラピン酸は反轉後の青色がうすいが、ヤラピノール酸では他の脂肪酸同様の強い青紫色を興える事を知つた。

結局甘藷澱粉では普通の脂肪酸以外にヤラピノール酸の如きオキシ脂肪酸及びオクタデシルアルコールの如き高級アルコールもアミロース沈澱劑として働き得る事が明かとなつた。

實 験 の 部

(1) 脱脂玉蜀黍澱粉中の fat-by-hydrolysis の定量： 第4報⁽¹⁾の實驗の部 (5) の通りに行う。

即ち、試料：25.3338 g, 乾量：21.4020 g, fat-by-hydrolysis: 0.0110 g, 従つて、脱脂玉蜀黍澱粉中に尙 0.05% の遊離脂肪酸を含んでいる。

(2) 澱粉の脱脂、天然澱粉抽出物の作製、之等の組合せによる反轉現象の觀察： 玉蜀黍澱粉、甘藷澱粉、馬鈴薯澱粉、糯米粉末を使用して第4報⁽¹⁾の實驗の部 (2) 及び (4) と同様に行つた。即ち、各種澱粉の脱脂を行つたメタノール濾過液を集め、減壓濃縮に依りメタノールを出来るだけ追出して残つた白濁液をエーテルと混じエーテル層を採つて完全にエーテルを追出して残る褐色の油狀物を透明なエタノール溶液として使用した。各2%脱脂澱粉糊液を糊化後、後に加える糊液の10%量の蒸留水の代りに2%澱粉濃度に相當する之等の抽出液量を添加して、その後は常法によつて酵素液の作用を觀察した。

(3) 油脂原料： 粗製油脂は乾性油の亞麻仁油、荏油、桐油、大豆油、半乾性油の棉實油、胡麻油、米糠油、菜種油、不乾性油の落花生油、蓖麻子油、椿油、阿列布油等の植物油、及び蛹油、鳥賊油、長須鯨油、抹香鯨腦油等の動物油を脱脂甘藷澱粉糊液へ糊液作成時に澱粉の半量を加えて常法通り酵素を作用させた。之等の粗製油では弱い反轉後の青色を示す。之は含有される遊離脂肪酸の爲と考えられる。

精製油脂としては長野縣販連製の精製胡桃油、花王石鹼和歌山工場齋藤洋氏より惠與された精製中性椰子油、及び次の様な脱酸法で遊離の脂肪酸を出来るだけ除去した脱酸大豆油の3者を、粗製油脂使用の場合と同様に添加使用した。脱酸大豆油は約50°で粗製大豆油に25%苛性ソーダ液を滴下して生ずる石鹼の沈澱を取り除き、水洗して調製した。之等を其の儘沸騰糊液に加えて作つた脱脂甘藷澱粉糊では全く反轉を示さないが、之を少量のアルコールに溶かして加えた糊では極く微弱の反轉を示した。

(4) ペーパークロマトグラフィーの試料調製： 第4報⁽¹⁾の實驗の部 (4) に依る甘藷澱粉のメタノール浸

* オクタデシルアルコールを惠與された花王石鹼和歌山工場齋藤洋氏に深謝する。

** フィトステリンを惠與された岐阜大學農學部松原弘道助教授に深謝する。

*** 本品の使用を許された岐阜大學農學部林金雄教授、松原弘道助教授に深謝する。

然るに甘藷から此の第2圖の方法で得られるアセトン可溶部は既に以前から研究されて居り、Jalapin と命名され、汽關の除垢劑としても使用され、其の成分は大略知られている。即ち、油脂、脂肪酸、octadecyl alcohol, phytosterols, jalapinic acid 等より成ると謂われる⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾。

之等諸成分の中、油脂は反轉を起さず、脂肪酸類は強く反轉を起す事は既述した。次に純オクタデシルアルコール* 及び甘藷から分離した精製フィトステリン** を脱脂澱粉糊に加え試験した結果、前者の場合は脂肪酸同様強い青色に反轉するが、フィトステリンでは弱い反轉後の青色しか示さなかつた。

出液をエーテル抽出し、エーテル回収後エーテル抽出物をエステル化操作を行いヒドロキシザム酸としてペーパークロマトグラフィーの試料とした。野田氏が操作の結果、オキシ脂肪酸及び高級水溶酸の存在を推定された。

(5) **SCHOCH** 法による甘藷澱粉の脂質量測定 上述(4)のエーテル抽出物を定量すると、

試料： 50.6580 g 乾量： 44.5830 g 脂質量： 0.0505 g 即ち、0.11% であった。

(6) ヤラピン酸及びヤラピノール酸の分離： 故小瀬伊俊博士が甘藷塊より分離されたヤラピンを試料として使用した。褐色粘質物のヤラピン 5.0 g を 50 cc の 15% 苛性ソーダ液で5時間煮沸して鹼化後、硫酸酸性とし脂肪酸及びオクタデシルアルコール等をエーテルで取り除き、殘液を濾過して不鹼化物を除いた濾液に鹽基性醋酸鉛を加えて生ずる沈澱物も除き、濾液に硫化水素を通じて過剰の鉛をおとし、その濾過液を減壓濃縮し、蒸發乾固した。之に無水アルコールを加えて溶解しない無機物を除き、アルコールを去つて淡褐色の無定形物質としてヤラピン酸約 0.8 g 得た。

又此のヤラピン酸 0.5 g を 10 倍量の 5% 硫酸に溶解し、冷却器を附した砂皿上の容器で 30 分間煮沸した。生じた混濁液を速に冷却し、生成するほぼ白色の結晶を集めた。融點 58°, 收量約 0.1 g。この結晶を粗ヤラピノール酸として使用した。

結 論

1. このヨード反応反轉現象は既に述べた如く⁽¹⁾⁽³⁾、澱粉中のアミロース成分とアミロース沈澱劑との相互作用に依つて生ずるアミロースの螺旋ミセルに起因する。従つてその何れか一方を缺けば此の現象は全く起らない。アミロースが充分量存在する場合には、反轉後の青色の強さ、色調は、アミロース沈澱劑の量及び種類によつて定まる。従つて天然澱粉の熱メタノール浸出物と脱脂澱粉とを組合せる事によつて、任意の天然澱粉の反轉型式を求める事が出来る。

2. 甘藷澱粉中に含まれるアミロース沈澱劑として、各種の普通の脂肪酸の他にオクタデシルアルコール及びヤラピノール酸が此の現象に關與す可き事を知つた。尙中性脂肪は本現象に直接の關係が無い。

終りに本實驗に支援を與えられた西京大學野田万次郎氏及び室員八木一文氏に感謝の意を表する。尙研究費の一部は文部省科學研究費に仰いだ。

- (1) 二國二郎、高岡研一、不破英次：日本農化大會 (25, 4, 9, 於東大) 及び酵素化學シンポジウム (25, 10, 28, 於東大) にて講演、農化, 25, 37 (1951)
- (2) T. J. SCHOCH : *J. A. C. S.*, 64, 2954 (1942).
- (3) 二國二郎、不破英次、高岡研一：第4回栄養食糧學會關西部會 (25, 10, 29, 於大阪衛研) にて講演、農化, 25, 71 (1951)
- (4) T. C. TAYLOR, L. LEHRMAN : *J. A. C. S.*, 48, 1739 (1926).
- (5) 井上吉之、野田万次郎：農化, 23, 294 (1950).
- (6) T. C. TAYLOR, J. M. NELSON : *J. A. C. S.*, 42, 1726 (1920).
- (7) L. LEHRMAN : *J. A. C. S.*, : 51, 2185 (1929).
- (8) 小瀬伊俊 : *Resear. Bull. Gifu Imp. Coll. Agr.*, 44, 1 (1938).
- (9) 西田孝太郎、四元哲二：甘藷の化學と其の利用 (朝倉書店) p. 33, p. 37 (1948).
- (10) 小瀬伊俊、松原弘道：岐阜農專學術報告, 52, 1 (1944).
- (11) 朝比奈泰彦、矢追秩榮 藥學誌, 523 號, 786 (1925).

Summary

As reported previously, the reversion of starch-iodine color reaction is caused by α -amylase when amylose component is brought to helical micells by amylose-precipitants in the starch paste. Therefore, in the absence of the one component, either amylose or amylose-precipitant, this phenomenon is not observed.

Various native starches give their specific reversion type according to their amylose contents and amount of amylose-precipitants. Voluntary reversion type is obtained by combining hot methanol extracts of native starches and defatted starches.

As the amylose-precipitants of native sweet-potato starch, ordinary fatty acids, such as palmitic, stearic and oleic acid, jalapinic acid (a saturated hydroxy-monocarboxylic acid) and octadecyl alcohol are recognized. Neutral fats and oils are not concerned with this reversion phenomenon.