



岡山県立岡山一宮高等学校

河合仁美, 羽根岡桃子, 光岡菜々子 (顧問: 大橋武文)

## 水あめに関する研究 デンプンの加水分解反応機構の解明

本研究は、平成 19(2007) 年度日本農芸化学会大会 (開催地東京) において開催された第 3 回「ジュニア農芸化学会」で発表され、本誌編集委員会から高い評価を受けた。酵素は、常温、常圧の緩和な条件下で反応を進行させる優れたタンパク質性触媒である。本研究では、酵素の特性を理解するため、デンプンの酵素分解反応と酸分解反応を題材にして、タンパク質性触媒と無機触媒の違いを明瞭にすることを目指している。

**本研究の目的、方法および結果** (「ジュニア農芸化学会」講演要旨集を部分的に改変転載した)

**【目的】** 水あめの製造におけるデンプンの加水分解反応には、触媒として酸または酵素が用いられることが教科書に記されている。デンプンの加水分解反応における酸と酵素の触媒としての働きが同じかどうか疑問をもち、両者の働きの違いを明らかにして触媒作用の本質に迫ろうと試みた。

### 【方法】

〈加水分解物試料の作製〉 デンプンを 90℃ の水で糊化したものに、触媒として酸または酵素 (消化酵素剤ジアスターゼ) を添加し、温度と時間を変えて加水分解反応をさせる下表のような反応系①～⑤を作製した。なお、ジアスターゼのアミラーゼ含量を 100% とみなし、その分子量を  $5 \times 10^4$  として計算した。

実験 No.	触媒の種類	触媒濃度 (mol/l)	反応温度 (°C)
①	ジアスターゼ	$2 \times 10^{-4}$	40
②	塩酸	1.0 (H <sup>+</sup> として)	40
③	ジアスターゼ	$2 \times 10^{-5}$	40
④	硫酸	1.0 (H <sup>+</sup> として)	80
⑤	硫酸	0.10 (H <sup>+</sup> として)	80

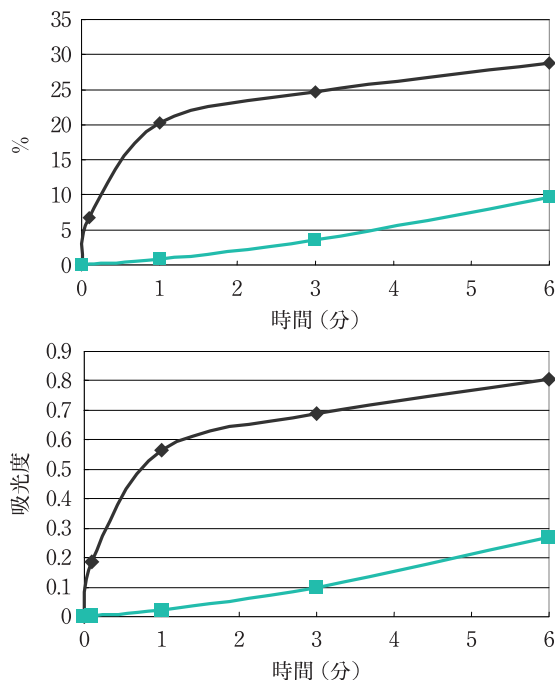


図 1 ■還元性末端の定量分析 (上) と加水分解度 (下)  
◆: 酵素分解 (実験①), ■: 硫酸分解 (実験④)

〈加水分解の分析〉 (i) 還元性末端の定量分析: 還元性末端の定量により、加水分解がどの程度起こったかを調べる。 (ii) 希薄溶液粘度測定: 加水分解による平均分子量の低下を調べる。 (iii) UV 吸収スペクトル測定: 加水分解物の分子構造に変化が生じていないかを調べる。

**【結果】** 以下に、還元性末端の定量分析 (図 1, 上), 加水分解度 (図 1, 下), 希薄溶液粘度の変化 (データ省略), および反応産物の UV スペクトル (図 2) 測定結果を示した。

**【考察】** 酵素の濃度は  $2 \times 10^{-4}$  mol/l ときわめて低い

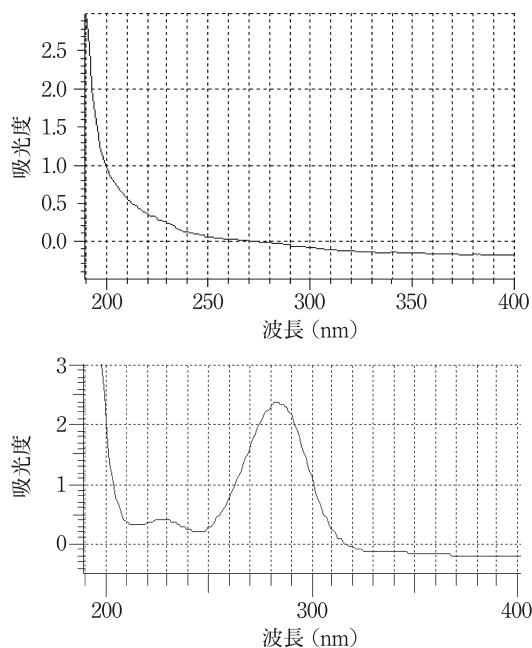


図2 ■ 反応産物の UV 吸収スペクトル  
上：酵素分解（実験①），下：硫酸分解（実験④）

にもかかわらず 40℃ で容易に分解が進むのに対し、酸では酵素の 5,000 倍のモル濃度にもかかわらず同じ 40℃ では反応せず、80℃ でやっと反応する（図1）。これは、酵素の反応活性化エネルギーが酸のそれに比べてきわめて小さいことを意味する。酵素は、反応分子と安定な中間体を形成することが知られており<sup>1)</sup>、それが大きな触媒効果を発揮する理由と考えられる。それに対し、酸は H<sup>+</sup> が直接反応に関わることで触媒効果を発揮するとされる<sup>2)</sup> ため、反応速度を大きくするために高温にすると、加水分解反応以外の副反応を起こして UV 吸収スペクトル（図2、下）で検知されるような分子構造の変化を引き起こすと考えられる。

**【結論】** 酸と酵素は、触媒としての働きが違う。酸触媒は、高温を必要とするので副反応が起こりやすいのに対し、酵素は低温で加水分解反応だけを促進する。酸触媒は、H<sup>+</sup> が反応に直接関与することで触媒効果を発揮するのに対し、酵素は反応物分子の立体姿勢を制御することが主な触媒効果であると考えられる。

- 1) Y. Matsuura *et al.*: *J. Biochem.*, **95**, 697 (1984).
- 2) 不破英次ら編：“澱粉科学の事典”，朝倉書店，2003.

## 本研究の意義と展望

水あめは、デンプンを酸や糖化酵素で加水分解（糖化）してつくられた粘液状の甘味料である。かつては発芽玄米の糖化酵素（アミラーゼ）が使われていたが、その後

に麦芽の糖化酵素が利用されるようになり、現在では酸による加水分解によっても製造されている（酸糖化法）。

酵素アミラーゼを作用させると、デンプンはデキストリンを経てマルトースまで分解される。マルトースは、酵素マルターゼによってグルコースにまで分解される。一方、デンプンを塩酸または硫酸と加熱すると、デキストリンを経てマルトースを生じ、最後はグルコースにまで分解される。本研究では、酵素ジアスターゼ〔β-アミラーゼ：デンプンを2糖（マルトース）に分解する〕を用いる酵素法と塩酸や硫酸のような酸を用いる酸糖化法によるデンプンの加水分解（糖化）において、酵素と酸の触媒反応の差異を理解することを目的とした。

その結果、酵素法の場合は、きわめて低濃度 ( $2 \times 10^{-4}$  M) で、かつ中性（溶媒：水）・常温 (40℃) 近くでデンプンの加水分解が効率よく進行する（図1）のに対し、酸を用いた場合には高温 (80℃)（図1）が必要であり、反応速度も低く、かつ UV 吸収を示す副産物を生じる（図2）ことを確認した。つまり、酸糖化法では、酵素法に比べてより厳しい反応条件 (pH < 1, 80℃) が要求され、かつ UV 吸収 (280~285 nm) を示す副産物を生じることを明らかにした。

グルコースは、高温下でヒドロキシ・メチル・フルフラール (HMF) を生じやすいことが知られている。この物質は、UV 吸収ピークを 280~285 nm にもち、容易に重合して着色物質を生じる。本研究では、UV 吸収物質の生成はグルコースに限らず、フルクトース、マルトース、サッカロースの場合にも見られる一般的な現象であることを確認している（データ省略）。HMF がさらに分解されると、レブリン酸やギ酸のような有機酸が生じる。また、グルコース分子が逆に2分子結合し、ゲンチオビオース（強い苦味がある）やイソマルトースなどが生成することも知られている。本研究で検出している副



写真1 ■ ポスター発表風景

産物は、その UV 吸収スペクトル (図 2, 下) から判断して HMF の可能性が高いが、さらなる同定が必要である。

このように、酸糖化法は、酸性で高温処理を行なうため、着色や苦味をもつ副産物が生じる欠点をもつ。酵素糖化法ではこのような問題は見られない (図 2, 上)。これは、本研究でも考察されているように、酵素が基質の認識を正確に行ない、かつ遷移状態での活性化エネルギーを低くし (つまり、温和な条件下での反応を可能とし)、酵素の活性中心で一定の反応を高速で行なうためである。生徒達も、こうした酵素の優れた特性を改めて認識できたのではなかろうか (写真 1)。なお、本研究で

は、酵素の反応速度や酵素と酸の触媒機構が分子レベルで考察されている。詳細は省略するが、指導された先生方の研究と教育に対する高い熱意に敬意を表したい。

生体内には膨大な種類の物質が存在し、それを代謝する多様な経路が交錯している。生体物質が無秩序に反応し、代謝系が乱れると生体の恒常性は破綻し、生命活動も停止する。酵素は、こうした混乱を回避するために、厳密な基質認識能と反応選択性を進化の過程で獲得してきた。この類いまれな性質をもつ酵素が、物質生産のきわめて優れた触媒にもなることを生徒達が理解してくれば大きな収穫である。

(文責「化学と生物」編集委員会)