

日本農芸化学会北海道支部
日本土壤肥料学会北海道支部
北海道農芸化学会

合同学術講演会

講演要旨

研究発表会：

昭和46年7月10日（土）午前9時より

北海道農芸化学会総会：

昭和46年7月10日（土）午後1時30分より

特別講演：

昭和46年7月10日（土）午後2時より

蛋白質の生合成とその調節

東北大學農學部教授 志村憲助氏

米質に関する二、三の問題点

北海道立中央農業試験場 渡辺公吉氏

懇親会：

昭和46年7月10日（土）午後6時より

会費 1,000円（学生500円）

場所 共済サロン（北4西1共済ビル内）

昭和46年7月10日（土）

北海道大学農學部農芸化学科第2講堂

○印は講演者（午前9時より）

1. 玉ネギの中性 Sucrase

北大農化 ○塩見徳夫, 山田次良
伊沢正夫

目的：玉ネギ中には sucrose の他に種々の oligofructan が存在しているが、先にそれらの量的変化を調べ、また oligofructan 合成酵素の存在を明らかにした。今回は先に存在が認められた sucrase についてその部分精製と若干の性質について報告する。

方法：玉ネギ芯部を磷酸緩衝液中で磨碎し、その上澄液を硫安分画および calcium gel 処理を行ない、DEAE-cellulose column chromatography を 2 回繰り返すことにより部分精製した。活性の測定には基質として sucrose を用い、生成した還元糖を Glucostat 法および Somogyi-Nelson 法を用いて測定した。

結果：得られた sucrase 標品は最適 pH を 7 附近に持ち、 sucrose の他に maltose にわずかに作用した (sucrose の分解に対し 8.7%) 以外は oligofructan (玉ネギの酵素により生成した三糖類) raffinose, inulin, turanose, α -methylglucoside, melezitose および melibiose 等を分解せず、転移作用は sucrose をはじめとしていずれの糖に対しても認められなかった。 sucrose に対する Km 値は 12.2 ± 0.1 mM (pH 7.0) であった。本酵素は $HgCl_2$ (10^{-5} M), $pCMB$ (10^{-5} M), $CuSO_4$ (10^{-8} M) および uranylacetate (10^{-3} M) により各々 100%, 73.5%, 73.2% および 18.4% 阻害された。 温度による影響は、 $60^\circ C$ 10 分間加熱により 95% 失活し熱には弱いものと考えられる。

2. 緑豆のアミノ酸組成 (II)

N-Carboxymethyl- β -alanine の単離同定

北海製缶株式会社 坂本隆二

前方において緑豆の70% EtOH 抽出液の酸性区分から 3 種の γ -glutamyl peptides の分離同定について報告したが、同区分よりさらに標題に記した化合物を単離した。この化合物は元素分析より $C_5H_9NO_4$ の組成を有し、ethyl ester の MS の分子イオンピークは m/e 203 で diethyl ester に相当する。IR : 3500 cm^{-1} (N H), 1690 (COOH), 1610 (COO $^-$), 塩酸塩の IR : 1760 (COOH), 1730 (COOH), 1550 (NH_2^+), NMR : δ 2.8 (2 H, t, $J=6\text{Hz}$), 3.4 (2 H, t, $J=6\text{Hz}$), 3.7 (2 H, s)。さらに、pyridoxal と Schiff base を形成しない、そ

の他の知見から本化合物を N-carboxymethyl- β -alanine, HOOCCH₂CH₂NHCH₂COOH と同定した。

β -Alanine と monochloroacetic acid から合成した化合物と IR, NMR, および, クロマトグラフィー的性質は完全に一致した。この化合物は天然から初めて見出されたものである。

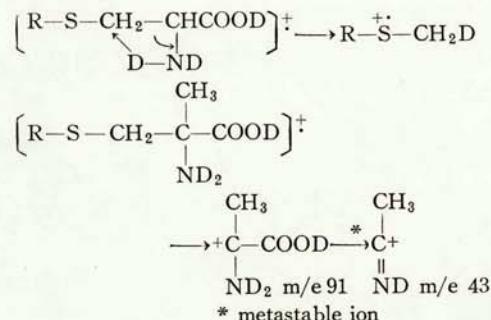
3. 含硫化合物のマススペクトルに関する研究(第1報) 含硫アミノ酸類のマススペクトル

北大農化 ○西村弘行, 田原哲士
奥山秀樹, 水谷純也

目的：一般にアミノ酸やペプチドのマススペクトルは、揮発性が低く、またカチオンとして不安定であるために、分子イオンピークの相対強度が小さく、しばしば全く観測されない場合がある。しかし、含硫アミノ酸類の分子イオンピークはかなりの強度をもつことが知られており、演者らは、マススペクトルを天然に存在する微量の含硫アミノ酸やそのペプチドの検出、同定、さらに天然あるいは非天然含硫アミノ酸やそれらのペプチドの微生物による代謝産物、あるいは酵素、光、放射線分解生成物の同定に応用する目的で、各種の含硫アミノ酸類を合成し、そのマススペクトルを測定し、構造とフラグメンテーションとの関連を考究した。

方法および結果：興味ある S-alkyl-L-cysteines とその sulfoxides, S-alkyl-2-methyl-DL-cysteines, glycyl-S-alkyl-L-cysteines, さらに環状含硫アミノ酸等30種以上を合成し、日立 RMS-4 型質量分析計でスペクトルを測定した。

一般に不飽和含硫アミノ酸や環状含硫アミノ酸では、かなり大きな相対強度の分子イオンピークが得られた。さらに含硫アミノ酸の重水素置換の実験とそのスペクトルの詳細な検討により、興味あるフラグメンテーションを明らかにした。



4. 糖の過ヨウ素酸酸化における過ヨウ素酸量の微量定量法について

北大農化 ○知地英征, 山田次良
伊沢正夫

糖の過ヨウ素酸酸化に際して、過ヨウ素酸の定量を行なう方法は種々あるが、滴定法では比較的多くの試料を要し、UV 吸収法では紫外部に吸収のある糖誘導体などを測定することが困難である。 Ferrous-2⁴, 6-tri-2-pyridyl-s-triazine complex (Fe-TPTZ と略す) を過ヨウ素酸で酸化し、紫色から無色の化合物にする反応を利用した G. Avigad らの方法はこの点で優れている。この方法を用いてオリゴ糖、メチルグルコシド、および糖アセタール誘導体について過ヨウ素酸酸化の際の過ヨウ素酸の経時的变化を測定した。 Fe-TPTZ 溶液 4.5 ml を糖と過ヨウ素酸の反応液(残存過ヨウ素酸 5~120×10⁻⁹ mole 含有) 0.5 ml に加え、593mμ での optical density を測定し、標準曲線から糖 1 mole 当り消費される過ヨウ素酸 (mole) を算出した。その結果、使用した糖および糖誘導体の過ヨウ素酸消費量は理論量とよく一致し、紫外部に吸収のある糖誘導体などの過ヨウ素酸酸化の定量が可能であり、また、この方法は鋭敏、かつ操作も簡単であることが示された。

5. α-アミノイソ酪酸分解酵素のアミノ基転移作用について

北大農化 下村得治 ○本間 守
池田 信

本酵素は α-アミノイソ酪酸を分解する酵素として細菌より分離されたが、多くの α-ジアルキル-α-アミノ酸の分解を触媒する。そのうち、α-アミノイソ酪酸、L-(+)-イソバリン、α-エチル-α-アミノ酪酸、d-(+)-イソバリンの分解速度を比較した結果、酵素活性は、α-ジアルキル-α-アミノ酸の D 配列に相当する炭素鎖により強く依存していると考えられる。さらに本酵素は L-アラニンと α-ケト酪酸との間のアミノ基転移反応をも触媒する。この反応の速さは、同様の条件における α-アミノイソ酪酸分解の速さの 1/3~1/5 を示し、この反応の平衡は幾分 L-α-アミノ酪酸生成の方へ寄っている。 $K_{eq} = [L-\alpha\text{-アラニン}] \cdot [\alpha\text{-ケト酪酸}] / [L-\alpha\text{-アミノ酪酸}] \cdot [\text{ビルビン酸}] = 0.62$ (pH 7.5)。本酵素によって触媒される 2 反応は、pH 依存性および数種の α-ケト酸に対する特異性において同様であり、ディスク電気泳動によって 2 つの活性を分離することができなかった。また α-アミノイソ酪酸分解酵素は α-アミノ酪酸に適応した細菌にも認められ、本酵素が α-アミノ酪酸の代謝に

も関与し得ると考えられる。

6. グラスサイレージの微生物相に関する研究(第16報) 牧草の刈取時期とサイレージの微生物相ならびに品質との関係

北大農化 佐々木酉二 ○佐々木 博
サイレージの品質が原料牧草によって大きく変動することはいうまでもなく、刈取時期が異なれば、牧草成分のみならず、外界の温度も異なり、これらの要因がサイレージの熟成に大きな影響を与えることは自明のことである。

この実験は、刈取時期の異なる牧草をそれぞれ 15 斛容の塔型サイロに埋蔵し、熟成過程におけるサイロ内温度の変化、埋蔵当初および取出時の微生物相、サイレージの酸組成、消化率、採食量、育成牛の増体効果などを比較したもので、主なる結果を要約すると、次のとくである。

1. 刈取時期の早い牧草では、気温の低いことも原因して、埋蔵当初は乳酸菌数も有害菌数も少なかったが、刈取時期が高温期になるにつれて、いずれの菌も増加した。

2. 熟成過程におけるサイロ内温度は、刈取時期が遅れるにつれて高くなり、サイレージの品質は、熟成温度の高いものほど劣質となった。

3. 有機酸組成、消化率、採食量、増体効果などは、いずれも早刈牧草を埋蔵したサイレージが最良で、遅刈牧草を埋蔵したものが最も劣っていた。

7. 泥炭処女地の微生物学的研究(3) セルローズ分解について

北大農化 佐々木酉二 ○吉田 忠
サロベツ原野泥炭地から分離したセルローズ分解細菌について、その生育および分解条件をしらべたうえ、これら条件を泥炭試料にも適用して泥炭分解の可能性を検討した。

(結果) 1. 供試 41 菌株は分類学的諸性状から 3 菌群に大別された。

2. これら供試菌の生育およびセルローズ分解の適温は 27~37°C、最適 pH は 6~8 であった。また、生育、分解の促進にはペプトン、酵母エキスが有効であり、無機塩では磷酸アンモニアソーダが有効のようであった。

3. この点は、水分、pH、窒素源を変えて種々の条件とした同地泥炭についての実験室的な検討によつても認められ、この種泥炭のセルローズ分解は、過剰の

水分を除き、酸度を矯正することだけによっても促進されること、さらにペプトン、酵母エキスの添加がよく、磷酸アンモニアソーダの添加も、むしろ嫌気的な分解菌を増殖させる点で有効であること、などが推測された。

8. ヘテロ乳酸菌のグルコース代謝に及ぼす酸素の影響について

北大農化 ○河合啓一 八島重昂
佐々木西二

ヘテロ乳酸菌の好気的グルコース代謝機構を解明する目的で、静置培養より得られた6菌種19菌株の休止細胞によるグルコース代謝能に対する酸素の影響について検討した。その結果、1) 振盪および静置両条件下ともに代謝能を有する菌群、2) 振盪条件下のみで代謝能を示し得る菌群の存在を認めた。更に、振盪培養により得られた5菌種8菌株の休止細胞は、殆んどの場合、振盪条件下のみでグルコース代謝能を発現した。そこで典型的なヘテロ乳酸菌である *Leuconostoc mesenteroides* IF O 3426 を振盪または静置条件下に培養し、その無細胞抽出液中の各種酵素活性の比較を行なった。その結果、振盪培養した場合にのみ、エタノール生成系主要酵素である aldehyde dehydrogenase (acylating CoA) および alcohol dehydrogenase の両活性が全く認められなかつた。更に、振盪培養から静置培養に移行すると、両酵素活性は急速に発現すること、および *in vivo* において酸素により不活性化されないことなどを認めた。以上の諸結果より両酵素活性は静置培養条件下で特異的に誘導されるものと推定した。これらの現象はヘテロ乳酸菌における糖代謝調節機構として興味深い。

9. 木本類の放射性化合物実験（予報）

北大低温研 勾坂勝之助

目的：木本類に放射性同位元素を与えて代謝体制とその変動に検討を加えるために、ボブラーを用いて微量の放射性化合物を定量的に実験材料に与える方法を工夫した。

方法（材料）：Stem に目的物質を与える時は次のようにした。直径約 5 mm のボブラーの枝を長さ 5~7 mm に切りとり、その下端の部分を無菌処理した鋭いナイフで切って平らにし、その小片を逆さに固定した。あらかじめ平らにしておいた切口に 5~15 μl の放射性化合物を与えると数分間で内部に吸いこまれる。つぎに 5~10 μl の水で表面に残った化合物の内部への流入をうながした。このあとは、パラフィルムで両端の切口を包んで一定条件において反応させた。

結果：Stem と Xylem に目的物質を定量的に与え得るが、Bark に定量的に与えることは困難であった。この方法によって、Stem や Xylem における代謝を *in vivo* に近い状態で知り得るように思われる。ボブラーの生活時期による Lysine-U- ^{14}C , Ribose-U- ^{14}C などの代謝の差を例として述べる。

10. 牛乳の蛋白還元価

北教大 ○北川三郎、榎原三枝

還元牛乳の検出にあたって、Choi & Clay らの ferricyanide 法により、原乳、普通乳、および加工乳についてその蛋白還元価を測定した。

原乳の蛋白還元価を基にすると、普通乳では3倍、加工乳では4~5倍の高い蛋白還元価を示し、季節によつては普通乳と加工乳との差は認められない。

普通乳に脱脂粉乳を添加して、蛋白還元価の増加率からみると、加工乳の蛋白還元価は脱脂粉乳10~20%の添加の蛋白還元価に相当する。

11. セラミドの酵素的合成について

帯畜大農化 ○勾坂敏郎 中野益男
根岸 孝 藤野安彦

先にわれわれ（1970）は、ネズミの肝の顆粒中でパルミチル CoA と放射性セリンとを縮合させたとき、スフィンゴ脂質に取込まれるスフィンゴシン塩基としては、スフィンゴシンが大部分を占め、ジヒドロスフィンゴシンは極く僅かであることをみた。これは、スフィンゴシンがジヒドロスフィンゴシンよりもできやすいか、または反応性にとむことを思わせる。今回われわれは、セラミド（N-アシルスフィンゴシン）の酵素的合成におけるスフィンゴシン塩基の反応性を調べることを主な目的としてこの実験を行なった。

Sribney (1966) および Fujino, Ito (1968) の方法を参考にして、各種のスフィンゴシン塩基と放射性の活性脂肪酸とを酵素的に反応させ、生じたセラミドをラジオ薄層クロマトグラフィーにより測定した。

その結果、スフィンゴシンの方がジヒドロスフィンゴシンよりも反応性が高く、またエリスロ型のものの方がスレオ型のものよりも活性が高いことを認めた。脂肪酸についてはオレイン酸が高く、パルミチン酸、ステアリン酸がこれに次いでいた。セラミドの合成能は、高い方からネズミの脳、ニワトリの肝、ネズミの肝、ニワトリの脳の順であった。

12. 米に含まれるステロール系糖脂質について

帶畜大農化 ○坂田澄雄 伊藤精亮
根岸 孝 藤野安彦

米の脂質成分のうち、中性脂質とリン脂質についてはかなりよく調べられているが、糖脂質に関してはほとんど調べられていない。前回、われわれは米のスフィンゴシン系糖脂質について報告したが、今回は、ステロール系糖脂質について分析を行なった。

玄米から全脂質を抽出し、これをケイ酸カラムクロマトグラフィーに供して中性脂質、糖脂質およびリン脂質に分画した。糖脂質画分からアシルステリルグリコシド(ASG)とステリルグリコシド(SG)を単離し、それぞれの純度を確認した。この2つの糖脂質をメタノール性塩酸で水解して、構成分を薄層クロマトグラフィーとガスクロマトグラフィーで分析した。ステロールとしては、ASGもSGとともに β -シトステロールが大半をしめ、このほかにカンペステロールとスチグマステロールも検出された。糖としては、両方ともグルコースが主成分で、ほかに僅かのマンノースも検出された。ASGの主な脂肪酸はパルミチン酸であった。

以上の成績から、米の代表的なステロール系糖脂質は、パルミトイ β -シトステリルグリコシドと β -シトステリルグリコシドであると考えられる。

13. 北海道産米の品質解析と

その改善技術に関する研究

第一報 登熟と米の食味に関する諸性質について
道立中央農試 渡辺公吉 ○稻津 倫
今野一男

北海道産米の登熟と米の食味を左右する物理化学的な諸性質の関係について検討した事例はきわめて少なく、登熟が進むとそれらの性質がいかに変化するかについてはほとんど知られていない。そこで米の登熟と食味を左右する物理化学的な諸性質、特に米デンプンを中心として2~3の検討をおこなった。

1. すい飯特性、アミログラム、米飯の粘弾性について検討した結果、登熟が進むにつれアミログラムの最高粘度が高くなり、すい飯特性のヨード呈色度が低くなる傾向を示していた。
2. 米粒中のデンプン含有率は登熟が進むと高くなり、デンプン中のアミロース含有率については低下する傾向を示していたが有意な差として認めることは出来なかった。
3. デンプン中のアミロース、アミロベクチンの性質と登熟の関係について調べた。

北海道農芸化学協会特別会員御芳名

(A, B, C順)

旭油脂株式会社
福山醸造株式会社
古谷製菓株式会社
合同酒精株式会社
北海道朝日麦酒株式会社
北海道日产株式会社
北海道糖業株式会社
北海道和光純薬株式会社
北海三共株式会社
北海製缶株式会社 缶詰研究所
関東化学販売壳株式会社
日本化学飼料株式会社

日本理化器械株式会社
日本新薬株式会社 札幌工場
日本甜菜製糖株式会社 技術部
ニッカウヰスキー株式会社
サッポロビール株式会社 札幌工場
札幌酒精工業株式会社
宝酒造株式会社
高砂香料株式会社
東洋科学産業株式会社 札幌出張所
雪印乳業株式会社
雪印アンデス食品株式会社