



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

| | |
|------------|---|
| Title | 穀物種子の水溶性多糖に関する研究 |
| Author(s) | 加藤, 宏治; 高木, 康好; 堀, 正彦; 山内, 亮; 上野, 良光 |
| Citation | [岐阜大学農学部研究報告 = Research bulletin of the Faculty College of Agriculture Gifu University] no.[53] p.[327]-[331] |
| Issue Date | 1988-12-25 |
| Rights | |
| Version | 岐阜大学農学部生物資源利用学科 (FACULTY OF AGRICULTURE GIFU UNIVERSITY, Department of Food Science) / 岐阜大学農学部生物資源利用学科 (FACULTY OF AGRICULTURE GIFU UNIVERSITY, Department of Applied Bioorganic Chemistry) |
| URL | http://hdl.handle.net/20.500.12099/5727 |

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

穀物種子の水溶性多糖に関する研究

加藤宏治・高木康好・堀 正彦・山内 亮・上野良光*

食品科学講座, *生物資源開発学講座
(1988年8月1日受理)

Chemical Features of Water-soluble Polysaccharides in Some Cereal Seeds

Koji KATO, Yasuyoshi TAKAGI, Masahiko HORI
Ryo YAMAUCHI and Yoshimitsu UENO

Department of Food Science,
**Department of Applied Bioorganic Chemistry*
(Received August 1, 1988)

SUMMARY

The polysaccharide was extracted with cold water from the endosperm of Sawa millet, Italian millet, psoso millet, Indian millet (grain sorgham) and African millet, respectively, and each was fractionated by DEAE-cellulose column chromatography. The fraction eluted with water contained a polysaccharide composed of only D-glucose, which was inferred to be a phytoglycogen from its high $[\alpha]_D$ value.

Arabinoxylan is known to be one component of water-soluble polysaccharide in cereals, but it was revealed that the cereals studied had much galactose-containing polysaccharide rather than arabinoxylan. African millet was especially conspicuous for the presence of a polysaccharide composed of only L-arabinose, which could not be revealed in other cereals.

Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. (53) : 327—331, 1988.

要 約

ヒエ、アワ、キビ、モロコシ、シコクビエの種子胚乳部から水溶性多糖を抽出し、DEAE—セルロースカラムクロマトグラフィーにより精製を行ったところ、フィトグリコーゲンと推定される多糖を単離することができた。このことから大麦、トウモロコシなどにその存在が確認されているフィトグリコーゲンがこれらの穀類にも存在することが明らかになった。更に冷水抽出多糖のアラビノースおよびキシロースの構成比率から考えると、穀類ガム質の一つになっているアラビノキシランよりもむしろガラクトースを構成糖として有する他の多糖がこれらの穀類には多く含まれているのではないかと推定される。特に、シコクビエに於いてはアラビノースのみから成る多糖が水溶性多糖として存在し、他の種子と対照的であった。

結 言

穀物種子に含まれる糖質の主成分は澱粉であるが、その他に若干の非澱粉質多糖が含まれている。この非澱粉質多糖には水溶性のガム質および水に不溶のヘミセルロースがあり、特に前者は、小麦のガム質はドウの粘性に影響している¹⁾、と言われるなど、食品加工上重要な影響を及ぼすことが指摘されている。

穀類のガム質としては、 β -(1 \rightarrow 4)と β -(1 \rightarrow 3)結合から成る β -グルカンが大麦²⁾について、また β -(1 \rightarrow 4)結合したキシランを主鎖とし、そのC2あるいはC3位にアラビノフラノシル基を側鎖として有するアラビノキシランが小麦³⁾、大麦⁴⁾などに、そしてフィトグリコーゲンと呼ばれる α -グルカンが大麦⁵⁾、トウモロコシ⁶⁾などに存在することが確認されている。

一方、ヒエ、アワなどの所謂雑穀類は主穀物よりも栄養価が高いと言われながらも、高度な利用面の開発がなされないままになっている。我々はこれら雑穀類を食品素材として利用する際その加工において様々な影響を与えるであろう水溶性の中性多糖に注目し、その種類と性状を明らかにすることを目的として本実験を行った。

実験方法および結果

1. 試料：本実験に使用した穀物の種類およびその産地を Table 1. に示した。いずれの種子も一般の市販店から購入したものである。

2. 水溶性多糖の抽出：試料とした各種子を粉砕機で粗挽きし皮殻部を取り除いたのち、クロロホルム/メタノール(1:1)混液を加え1時間加熱還流し脱脂を行った。脱脂物は風乾したのち、ボールミルを用いて粉末状とした。これに予め4℃に冷却しておいた4倍量の純水を加え4℃で4時間攪拌して水溶性多糖を抽出した。抽出液は6~7000rpmで15分間遠心分離し上清と残渣とに分けた。上清液のモーリッシュ反応がほぼ陰性になるまでこの抽出操作を繰り返した。モーリッシュ反応陽性の上清液は合わせたのち、約1/10容になるまで40℃で減圧下に濃縮した。この時生じた不溶物は遠心分離により除去した。濃縮液に2倍量のメタノールを加え多糖を沈澱させ、これを遠心分離により回収後再び水に溶解させセロファンチューブを用いて48時間流水中で透析を行った。透析内液を凍結乾燥して粗水溶性多糖を褐色粉末状に得た。各種子からの収率を Table 2. に示した。

3. 構成糖の種類およびその割合：多糖約5mgに0.25M硫酸1mlを加え封管後100℃に12~14時間加熱し加水分解を行った。分解液を5%水酸化バリウム溶液および炭酸バリウムを用いて中和した後生じた沈澱を遠心分離にて除去した。上清に水素化ホウ素ナトリウム約5mgを加え、室温に一晩放置し、分解液中の糖を糖アルコールに還元した。過剰の水素化ホウ素ナトリウムを陽イオン交換樹脂 Amberlite IR-120(H⁺型)で分解脱塩した後、樹脂を汙別し、汙液を40℃で減圧下に濃縮乾固した。乾固物にメタノー

Table 1. 実験に使用した雑穀類とその産地

| 穀物種子(英名, 学名) | 産地 |
|--|------|
| ヒエ (Sawa millet, <i>Echinochloa Crus-Galli</i> L.) | 青森県 |
| アワ (Italian millet, <i>Setaria italica</i> Beauv) | 徳島県 |
| キビ (proso millet, <i>Panicum miliaceum</i> L.) | 岡山県 |
| モロコシ (Indian millet, <i>Sorghum vulgare</i> L.) | アメリカ |
| シコクビエ (African millet, <i>Eleusine coracana</i> Gartner) | インド |

Table 2. 水溶性多糖画分の諸性質

| 穀物種子 | 収量(%) | 糖含量(%) | 蛋白質* 含量(%) | 糖組成(%) | | | | |
|-------|-------|--------|---------------|--------|------|-----|------|------|
| | | | | Ara | Xyl | Man | Gal | Glu |
| ヒエ | 0.16 | 68.3 | 20.1 | 7.1 | t | t | 6.1 | 86.7 |
| アワ | 0.52 | 85.2 | 2.3 | 7.1 | t | 2.2 | 9.1 | 81.6 |
| キビ | 0.29 | 85.3 | 3.2 | 2.4 | t | t | 2.2 | 95.4 |
| モロコシ | 0.41 | 91.1 | 0.6 | t | t | t | t | 99.9 |
| シコクビエ | 0.61 | 59.0 | 19.0 | 21.0 | 11.0 | — | 11.0 | 58.0 |

*ケルダール法によって窒素を定量し、窒素係数6.25を乗じて求めた。

t: trace amount

ルを加え濃縮乾固する操作を繰り返しホウ酸を除去した。次いで無水ピリジン0.1ml, 無水酢酸0.1mlを加え密栓して室温に一晚放置しアルジールアセテートを調製しガスクロマトグラフ(島津GC-7A型)による分析を行った。得られた各ピークの保持時間から化合物の種類を, また面積からそれらの割合を算出した。ガスクロマトグラフによる分析条件は次のとおりである。

カラム: 3% Silar 10C on Uniport B (100~200メッシュ) ガラスカラム (0.3×200cm)

カラム温度: 220→240°C (4°C/minの昇温)

キャリアーガス: 窒素 (50ml/min)

検出器: 水素炎イオン化検出器 (FID)

記録計: 島津クロマトパック C-RIA

各水溶性多糖の糖組成およびその割合を Table 2. に示した。

4. DEAE—セルロースカラムクロマトグラフィーによる分画: 各水溶性多糖には Table 2. に示したように, その糖組成からグルカンの他に若干のヘテロ多糖が混在していると判断され, また蛋白質含量も比較的高かったことから, 蛋白質の除去および各多糖の精製を目的として Neukom ら⁷⁾の方法による DEAE—セルロースカラムクロマトグラフィーを行った。即ち, 各水溶性多糖(約300mg)を予め調整したDEAE—セルロースカラム (B₄O₇²⁻型, 4.5×90cm)に供し, 純水(A), M/20(B), 飽和(C)四ホウ酸ナトリウム溶液およびM/10水酸化ナトリウム溶液により順次溶出を行った。溶出液は1.5ml/minで流し, フラクションコレクターで15mlずつ分画した。フラクションごとにアンスロン・硫酸法で糖含量を, 280nmの吸光度で蛋白質含量を求めた。その結果を Fig. 1. に示した。各溶出液で得られた画分は稀塩酸で中和した後, セロファンチューブを用いて流水に対し透析し, 透析内液を凍結乾燥した。この一部を前記(3)の方法で分析し, 各画分の糖組成およびその割合を求めた。結果は Table 3. にまとめて示した。

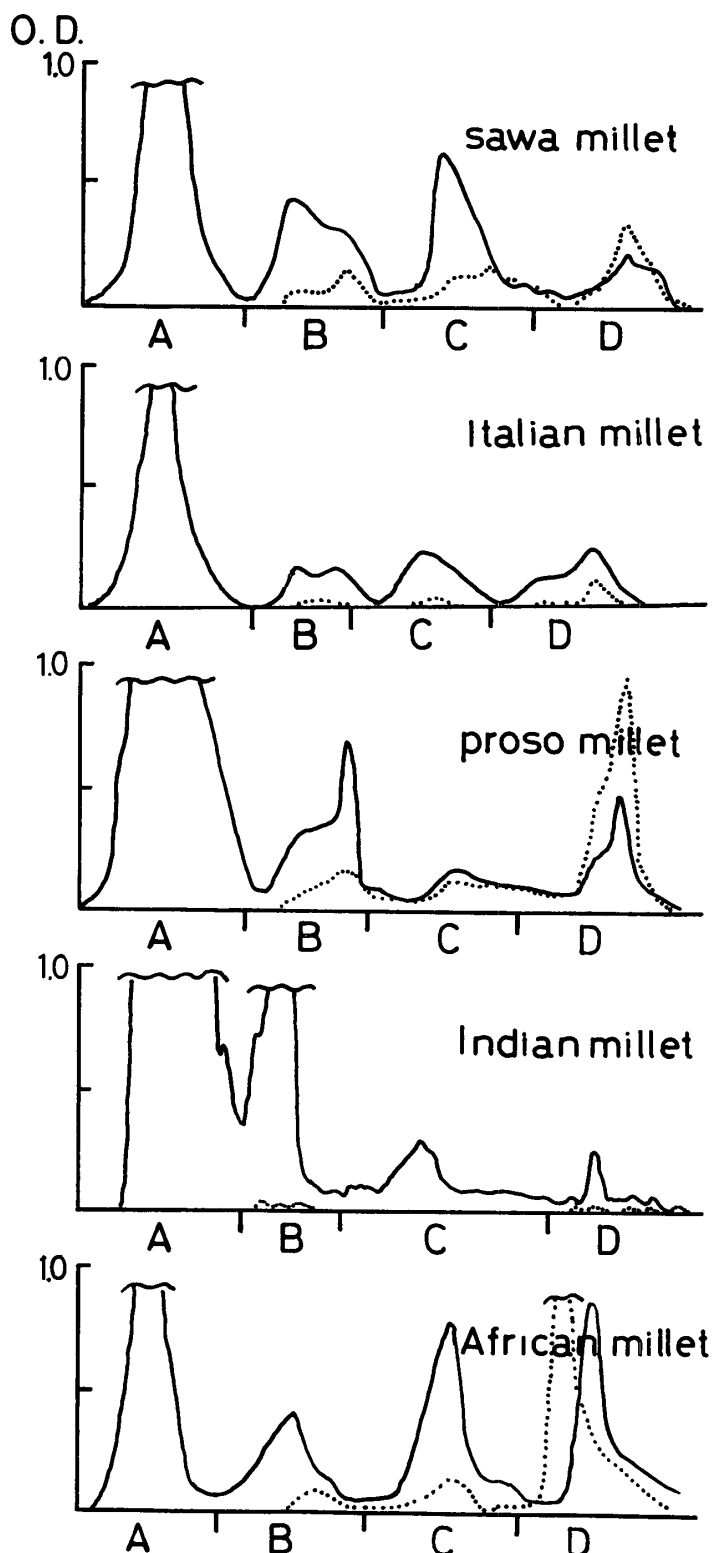


Fig. 1 Elution profiles of water-soluble polysaccharide from DEAE-cellulose column chromatography. O. D. : Optical Density at 280 (for protein,) and 620 nm (for carbohydrate, ———). A : fraction eluted with water, B and C : fractions eluted with M/20 and saturated sodium borate, respectively, D : fraction eluted with M/10 sodium hydroxide.

Table 3. 水溶性多糖の DEAE—セルロースカラムクロマトグラフィーによる分画で得られた各画分の性質

| 穀物種子 | 画分* ¹ | 収 量(%) | 糖含量(%) | 蛋白質 含量(%) | [α] _D ² | 糖 組 成 (%) | | | | |
|-------|------------------|--------|--------|--------------|--|-----------|------|------|------|------|
| | | | | | | Ara | Xyl | Man | Gal | Glu |
| ヒエ | A | 62.2 | 98.0 | 0 | +162 | — | — | — | — | 100 |
| | B | 3.3 | 28.3 | 16.9 | + 23 | 8.5 | 5.7 | 45.7 | 7.3 | 29.3 |
| | C | 1.7 | 22.3 | 20.1 | - 44 | 3.7 | 1.2 | t | 5.7 | 89.4 |
| | D | 4.2 | 44.0 | 14.5 | - 52 | 15.4 | 9.4 | 6.4 | 21.8 | 37.8 |
| アワ | A | 60.0 | 90.0 | 0 | +182 | — | — | — | — | 100 |
| | B | 1.9 | 48.3 | 33.0 | - 43 | 47.9 | t | — | 40.5 | 11.6 |
| | C | 1.5 | 21.4 | 18.9 | -102 | 5.1 | 1.4 | — | 6.5 | 87.1 |
| | D | 1.7 | 23.0 | 20.0 | + 4 | 22.4 | 20.8 | t | 20.2 | 36.6 |
| キビ | A | 62.3 | 96.2 | 0 | +170 | — | — | — | — | 100 |
| | B | 1.2 | 34.0 | 35.0 | + 53 | 16.1 | 3.9 | t | 42.7 | 37.3 |
| | C | 1.1 | 28.8 | 20.0 | - 82 | 23.5 | 11.4 | 6.2 | 21.3 | 37.6 |
| | D | 3.3 | 57.3 | 24.2 | - 63 | 3.1 | 10.1 | 12.0 | 19.9 | 48.4 |
| モロコシ | A | 66.4 | 91.0 | 0 | +160 | — | — | — | — | 100 |
| | B | 5.5 | 60.1 | 5.1 | + 5 | 10.0 | t | — | 21.3 | 68.7 |
| | C | 4.1 | 21.3 | 11.5 | -144 | 5.5 | 4.3 | 1.4 | 7.8 | 80.0 |
| | D | 3.7 | 32.8 | 20.5 | - 88 | 7.5 | 10.5 | t | 3.8 | 68.2 |
| シコクビエ | A | 22.4 | 54.0 | 0 | +102 | 39.0 | t | — | — | 61.0 |
| | B | 10.2 | 40.0 | 13.0 | - 14 | 28.0 | 18.0 | — | — | 36.0 |
| | C | 18.4 | 30.0 | 8.0 | - 33 | 16.0 | 17.0 | — | 16.0 | 41.0 |
| | D | 17.0 | 25.0 | 68.0 | + 25 | 34.0 | 66.0 | — | — | — |

* 1. A: 水溶出画分, B: M/20四ホウ酸ナトリウム溶出画分, C: 飽和四ホウ酸ナトリウム溶出画分, D: M/10水酸化ナトリウム溶出画分

* 2. M/10塩化ナトリウム溶液中で測定

t: trace amount

考 察

各種子胚乳部から冷水で抽出し、透析により低分子化合物を除去した粗多糖画分の収量はいずれの種子に於いても1%未満で、その含量はきわめて少ないことが判る。低分子化合物を除いた冷水抽出成分のうち、ヒエ、シコクビエに於いては他の種子と異なり約20%が蛋白質によって占められ、反対にアワ、キビ、モロコシに於いては1~3%が蛋白質で大部分は糖質からなるのが対照的である。

多糖画分の糖組成をみると、いずれの種子に於いてもグルコースが大部分を占め、次いでアラビノース、ガラクトースなどが比較的多く含まれているのが判る。ただし、モロコシにおいては殆ど100%がグルコースであり、他の糖類は痕跡程度に検出されたのが特徴的である。このようにグルコース以外に若干の糖類が構成糖として検出され、複数の多糖体の混在が推定されたので、それを DEAE—セルロースカラムを用いて分画精製した。シコクビエを除きいずれの種子においても水で溶出される画分(A)はグルコースからのみ成り、且つ比旋光度が高かったことから α -グルカン、即ちフィットグリコーゲンではないかと推定した。シコクビエに於いてはグルコースと共にアラビノースが検出されたことから、アラバンと α -グルカン(フィットグリコーゲン)の混合物ではないかと考えられる。従って、シコクビエに於いては、画分(D)に存在するアラビノキシランと推定される多糖以外にアラビノースから成る多糖が画分(A)に存在し、他の種子にはない特徴的な多糖になっているのではないかと考えられる。何故ならば、他の種子に於いても同様なアラバンが存在すると考えるならば、同じように水で溶出される画分(A)にアラビノースが検出されなければならないからである。キシロースを構成糖として含有する多糖は、いずれの種子に於いても水以外の溶媒で溶出される画分に存在しているが、その量は Table 2. からも判るようにシコクビエを除き極めて少量である。従って、ガム質として知られるアラビノキシランの含有量は実験に供した穀類には多く含まれ

ず、むしろアラバンやアラビノガラクトン系の多糖が多く含まれているのではないかと推定される。今回の実験ではいずれの種子に於いても水溶出の画分(A)以外の画分(B), (C), (D)はその旋光度や糖組成を比較考察するに依然として2種以上の多糖の混合物であると推定され、それらの種類や性状を明らかにすることは出来なかった。

謝 辞

本研究の一部は銚東海製粉機製作所からの奨学研究費を使用して行ったものであります。同製作所代表取締役社長、西田 千代一氏に対し深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) G. S. Bains and G. N. Irvine : Quality of Canadian Amber Durum wheat grades and the role of a pentosan-rich fraction in macaroni dough quality, *J. Sci., Food Agr.*, 16, 223-240 (1965).
- 2) G. O. Aspinall and R. G. Telfer : Cereal Gums. Part I. The Methylation of Barley Glucosans, *J. Chem. Soc.*, 3519-3522 (1954).
- 3) A. S. Perlin : Structure of the soluble pentosans of wheat flour, *Cereal Chem.*, 28, 382-393 (1951)
- 4) G. O. Aspinall and R. J. Ferrier : Cereal Gums. Part III. The Constitution of an Araboxylan from Barley Flour, *J. Chem. Soc.*, 638-642 (1958).
- 5) K. A. Gilles, W. O. S. Meredith and F. Smith : The Carbohydrate of the Gramineae. The constitution of the water-soluble polysaccharides of the grain of barley (*Hordeum vulgare*), *Cereal Chem.*, 29, 314-316 (1952).
- 6) S. Peat, W. J. Whelan and J. R. Turvey : The soluble polyglucose of sweet corn, *J. Chem. Soc.*, 2317-2322 (1956).
- 7) H. Neukom and W. Kuendig : Fractionation on Diethylaminoethylcellulose Columns, *Methods Carbohydrate Chem.*, 5, 14-17 (1965).