

炭水化物に関する研究

農産物炭水化物の分別定量について

橋本一哉・磯部信昭・高橋善次郎

STUDIES ON THE CARBOHYDRATES OF PLANTS FRACTIONAL QUANTITATIVE ANALYSIS OF CARBOHYDRATE PATTERN IN AGRICULTURAL PRODUCTS

Kazuya Hashimoto, Nobuaki Isobe and Zenjiro Takahashi

The purpose of the present paper is to propose a systematic method of fractional quantitative analysis for estimating the carbohydrate patterns in agricultural products.

Khym and Zill¹⁾ reported that borate complexes of sugars could be separated by the ion exchange chromatography, while Mizuno²⁾ suggested that polysaccharides in plant materials were divided into several fractions by extracting those with suitable solvents.

Dubois et al.³⁾ reported that they developed a method for determining submicro amount of sugars and related substances by using the phenol-sulfuric acid reaction of saccharides.

By combing these methods, some simple sugars and polysaccharides were subjected to the investigation of a fractional quantitative analysis of carbohydrates, and this was applied to the estimation of carbohydrates in some vegetables.

The following results were obtained.

Glucose, fructose and sucrose were the simple sugars in the vegetables examined (Fig. 3-6), and cellulose was the main polysaccharide component in vegetables (Table 7-10).

Trehalose was found to be the only simple sugar and mannitol, hemicellulose and glycogen are contained in the greatest quantities among the carbohydrates in the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus* (Fig. 7, 8 and Table 11).

緒 論

炭水化物は食料として蛋白質や脂肪と共に重要であり、一方自然界に最も多い有機化合物でもある。従って陸生植物体の炭水化物の量や質を把握することは、炭水化物利用上からも極めて有利なことと考えられる。

従来植物性炭水化物については、糖の種類を明らかにせず、直接に還元糖または全糖の含有量を測定しているが、糖の種類によってその滴定値または発色度が異なるため、糖の混合物の還元力を直接測定した方法では正確を期し難い。また陸生植物体に見出される多糖類の種類も非常に多く、系統的な分別定量が炭水化物利用上の点からも必要であると考えられる。

糖類の分別定量として従来知られている方法の中で KHYM. ZILL¹⁾ らの考案したイオン交換樹脂によるカラムクロマトグラフィーは、非常にすぐれた方法である。また多糖類の分離法としては水野²⁾の系統的な分別法は操作が比較的簡単で、広範囲に応用可能である。

そこで両定量法を同時に行なえば、陸生植物体の糖類から、多糖類にわたって分別定量が可能になると考えて、まず各種糖類および多糖類の標品について基礎的な知見を得て、次にこれを蔬菜類に応用した結果を報告する。

実験方法および結果

1. 糖類および多糖類の定量法

1) 糖類と多糖類の吸収極大および吸光値

DUBOIS³⁾ および MONTGOMERY⁴⁾ によって報告されたフェノール・硫酸法で生ずる Yellow orange の発色は極めて安定で、単糖類から多糖類に至るすべての炭水化物、およびその誘導体についても適用出来て、その上アミノ酸や蛋白質の混在は殆んど無視出来るので、アンスロン法よりも便利な方法である。

その吸収極大は何れも 480m μ 付近に存在した、Table 1 および Table 2 に反応液の吸光値を示す。吸収極大と 480m μ の吸光値の差は殆んどなく、480m μ における測定値で十分で

Table 1 Absorption data for certain sugars determined by phenol sulfuric acid reagent (80 μ g/ml)

Compound	Wave Length max.	Absorbance		Difference
		max.	at 480 m μ	
glucose	485	0.9136	0.8928	0.0208
galactose	483	0.6778	0.6615	0.0163
fructose	482	0.8665	0.8539	0.0126
mannose	485	1.0362	1.0000	0.0362
sucrose	482	0.9508	0.9431	0.0077
maltose	485	0.8996	0.8861	0.0135
cellobiose	485	0.8794	0.8416	0.0378
trehalose	485	0.8125	0.7905	0.0220
raffinose	484	0.7447	0.7399	0.0048
xylose	477	1.3010	1.2840	0.0170
ribose	476	1.3188	1.2840	0.0348
arabinose	476	0.9066	0.8794	0.0272
rhamnose	480	0.7958	0.7958	0
glucuronic acid	480	0.5031	0.5031	0
galacturonic acid	480	0.4437	0.4437	0
suc. glc. fru.	482	0.8069	0.7959	0.0110
xyl. rib. arab.	476	1.1549	1.1308	0.0241
fru. glu. gal. man.	483	0.8601	0.8477	0.0124
suc. mal. raff.	482	0.8601	0.8539	0.0062
*mixture of sugars	480	0.9666	0.9666	0

* Contained same quantity of 13 kinds of sugars.

Table 2 Absorption data for certain polysaccharides determined by phenol sulfuric acid reagent (50 $\mu\text{g/ml}$)

Compound	Wave Length max.	Absorbance		Difference
		max.	at 480 $m\mu$	
starch (potato)	482	0.4815	0.4685	0.0130
starch (rice)	482	0.4711	0.4685	0.0026
glycogen	485	0.5287	0.5143	0.0144
dextrin	482	0.5622	0.5528	0.0094
inulin	485	0.5467	0.5376	0.0091
cellulose	485	0.4868	0.4815	0.0053
galactomannan	485	0.3893	0.3788	0.0105
pectin	482	0.2426	0.2381	0.0045
alginate	478	0.1379	0.1367	0.0012
dextran	483	0.5229	0.5171	0.0058
amylose	483	0.4976	0.4921	0.0055
xylan	478	0.6576	0.6536	0.0040
agar	488	0.3188	0.2993	0.0195
CMC	485	0.3449	0.3298	0.0151
xyl. starch	478	0.5528	0.5498	0.0030
dextrin starch	485	0.5229	0.5114	0.0115
inulin glycogen	482	0.5114	0.5058	0.0056
xyl. sta. amy. dextran	482	0.5376	0.5346	0.0030
*mixture	482	0.3788	0.3768	0.0020

* Contained same quantity of 12 kinds of polysaccharides.

あると考えられた。

2) 検量線

480 $m\mu$ における各種糖類および多糖類の検量線を求めた。検量線は2種類以上の等量混合液においても10~100 $\mu\text{g/ml}$ の範囲で Lambert-Beer の法則に従い、原点を通る一次直線となり Table 3 および Table 4 の結果を得た。

2. 既知糖混合溶液の分離

強塩基性陰イオン交換樹脂 Dowex 1 \times 8 200~400mesh を硼酸塩型にし、糖試料(弱電解質でイオン交換樹脂とイオンの反応する傾向は殆んどない)を予め $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ と錯合体を形成させ、カラムに添加し溶出する。各溶出液はフラクションコレクターで 10ml 宛試験管にとり、前記のフェノール硫酸法で糖の定量を行なった。Table 5 および Fig. 1 に各糖の溶出位置および回収率を示す。

3. 炭水化物の分別操作

各種の炭水化物を分別するため、水野の方法に準じて粉末試料 100mg を東洋汙紙 No. 4 径 5.5 cm を用いてティーバッグ式に包み、500 倍の溶媒で抽出を3回繰り返し、第1回目の抽出液を定量に供した。なお盲検として試料を包まない汙紙を並行して行ない、同一操作に供した。

炭水化物の分別操作の概略は Fig. 2 に示すように一連の操作で、炭水化物を1から8のフラク

Table 3 Standard curve of sugars

Compound	Standard curves*
glucose	Y = 93.85 X
galactose	Y = 134.28 X
fructose	Y = 103.46 X
mannose	Y = 94.74 X
sucrose	Y = 101.73 X
maltose	Y = 98.95 X
cellobiose	Y = 88.43 X
trehalose	Y = 104.65 X
raffinose	Y = 114.56 X
xylose	Y = 61.74 X
ribose	Y = 66.89 X
arabinose	Y = 103.46 X
rhamnose	Y = 92.31 X
glucuronic acid	Y = 157.63 X
galacturonic acid	Y = 198.00 X
suc. glc. fru.	Y = 100.51 X
xyl. rib. arab.	Y = 70.75 X
suc. mal. raff.	Y = 93.69 X
fru. glc. gal. mann.	Y = 94.37 X
mixture**	Y = 96.55 X

* Where Y is the sugar concentration ($\mu\text{g/ml}$) and X is the absorption at $480\text{ m}\mu$.

** Contained same quantity of 13 kinds of sugars.

Table 5 Elution order and recovery of some sugars

sugars	eluting agent M ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$)	ml. to peak	recovery %
sucrose	0.005	30	102.0
raffinose	0.005	30	99.6
cellobiose	0.005	80	91.0
maltose	0.02	450	98.4
ribose	0.02	540	97.0
mannose	0.02	730	90.2
fructose	0.03	890	95.8
arabinose	0.03	900	96.4
xylose	0.03	1000	89.1
galactose	0.03	1030	99.0
glucose	0.03	1150	96.9

Table 4 Standard curve of polysaccharides

Compound	Standard curves**
starch (potato)	Y = 110.30 X
" (rice)	Y = 117.97 X
glycogen	Y = 103.46 X
dextrin	Y = 97.38 X
inulin	Y = 96.51 X
celullose	Y = 101.37 X
galactomannan	Y = 125.29 X
pectin	Y = 184.98 X
alginate	Y = 327.37 X
dextran	Y = 98.26 X
amylose	Y = 108.48 X
xylan	Y = 87.85 X
agar	Y = 192.31 X
CMC	Y = 169.95 X
xylan starch	Y = 95.62 X
xylan starch dextran	Y = 96.51 X
amylose	
polysaccharides mixture *	Y = 124.01 X

* Contained same quantity of 12 kinds of polysaccharides.

** Symbols were same as Table 3.

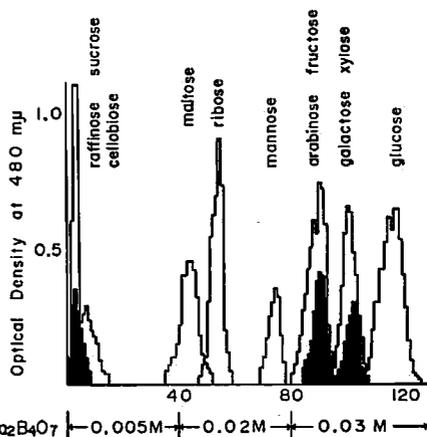


Fig. 1 Separation of sugars by using ion exchange

ションに分別し、各フラクションから 1 ml 宛 ($10\sim 100\mu\text{g/ml}$) を定量に供し、 $480\text{ m}\mu$ における吸光値より便宜上未知の糖類または多糖類を Table 3 および Table 4 より次式にて算出することとした。

$$\text{糖類} (\mu\text{g}) = 96.55 \times \dots\dots\dots (1)$$

$$\text{多糖類} (\mu\text{g}) = 124.01 \times \dots\dots\dots (2)$$

但し $x = x_1 - x_0$

x_1 : 沝紙に包んだ試料の抽出反応液の吸光値

x_0 : 沝紙抽出反応液の吸光値

Fig. 2 Procedure of separations of carbohydrates in plant materials

Powdered water-free sample 100 mg	
mono- saccharide	1 — 80% EtOH 50 ml, 80 C 8 hrs.
oligo-	2 — 50% EtOH 50 ml, 80 C 8 hrs.
polysaccharide	3 — H ₂ O 50 ml, 20-30 C 8 hrs.
araban galactan	4 — H ₂ O 50 ml, 100 C 8 hrs.
starch glycogen	5 — 1% Ammonium Oxalate 50 ml, 100 C 8 hrs.
pectin	6 — 5% NaOH 50 ml, 30 C 2 4hrs.
hemicellulose	7 — 5% NaOH 50 ml, 100 C 8 hrs.
cellulose	8 — 20% H ₂ SO ₄ 100 ml, 0 C
	lignin

4. マンニットの定量

マンニットは一般に茸類中に多量に存在すると言われているが、フェノール硫酸法では測定が不可能である。マンニットは KIO₄ で酸化するとギ酸とホルムアルデヒドを生ずるので、生成したホルムアルデヒドをクロモトロープ酸と反応発色し、750m μ で測定すると 1~30 μ g/ml の範囲で Lambert-Beer の法則に従い、その回収率は Table 6 のように高い結果が得られた。

Table 6 Recovery experiments of mannitol with mushroom extracts

mushroom extracts (ml)	(a) mannitol added (μ g/ml)	mannitol found (μ g/ml)	(b) 1)–2)	b/a \times 100 Recovery %
1	3.73 —	6.04 ¹⁾ 2.29 ²⁾	3.75	100.5
2	3.73 —	7.98 ¹⁾ 4.30 ²⁾	3.68	98.7
3	3.73 —	12.14 ¹⁾ 8.44 ²⁾	3.70	99.2
4	3.73 —	20.80 ¹⁾ 17.07 ²⁾	3.73	100.0

5. 蔬菜類中の炭水化物組成

イチゴ、ピメント、アスパラガス、カリフラワーの炭水化物分別定量結果は Table 7~10 に示したように遊離糖が多く、多糖類としてはセルローズ、ヘミセルローズ、その他グルカンが構成炭水化物として主体をなした。

遊離糖類の構成糖は Fig. 3~6 のようにグルコース、フラクトースおよびシュクロースの 3

種類で、その含有量は Table 11 のように遊離糖の占める割合は全炭水化物中、イチゴ 82.1%、ピメント 60.8%、アスパラガス 59.5%、カリフラワー 31.1% で、イチゴに最も多く、その甘味の主体をなす。

Table 7 Analysis of carbohydrates in strawberry

Fraction number	Max. wave length $m\mu$	Absorbance at 480 $m\mu$			Carbohydrates %
		x_1	x_0	X	
1	482	0.6234	0.0061	0.6173	62.04
2	480	0.4584	0.0026	0.4558	2.83
3	480	0.1024	0.0009	0.1015	0.63
4	480	0.2007	0.0141	0.1866	1.16
5	480	0.1306	0.0104	0.1190	0.74
6	480	0.2306	0.0883	0.2306	1.43
7	480	0.1993	0.0645	0.1993	1.24
8	480	0.5654	0.0269	0.5385	5.46
Total amounts of carbohydrates					75.53

Table 8 Analysis of carbohydrates in pimento

Fraction number	Max. wave length $m\mu$	Absorbance at 480 $m\mu$			Carbohydrates %
		x_1	x_0	X	
1	485	0.8363	0.0114	0.8363	42.03
2	482	0.6383	0.0195	0.6188	7.67
3	485	0.0904	0.0009	0.0895	0.56
4	482	0.5143	0.0088	0.5055	3.13
5	482	0.4634	0.0259	0.4375	2.71
6	480	0.4976	0.0926	0.4050	2.51
7	480	0.3487	0.0926	0.2561	1.59
8	482	0.8861	0.0061	0.8800	8.92
Total amounts of carbohydrates					69.12

Table 9 Analysis of carbohydrates in white asparagus

Fraction number	Max. wave length $m\mu$	Absorbance at 480 $m\mu$			Carbohydrates %
		x_1	x_0	X	
1	482	0.7696	0.0259	0.7437	37.38
2	480	0.5031	0.0555	0.5031	5.55
3	480	0.1512	0.0009	0.1503	0.93
4	480	0.4976	0.0035	0.4941	3.06
5	482	0.3449	0.0095	0.3352	2.10
6	480	0.6737	0.0862	0.5875	2.94
7	480	0.4089	0.1135	0.2954	1.83
8	480	0.9218	0.0287	0.8931	9.05
Total amounts of carbohydrates					62.82

Table 10 Analysis of carbohydrates in cauliflower

Fraction number	Max. wave length m μ	Absorbance at 480 m μ			Carbohydrates %
		x_1	x_0	X	
1	485	0.5952	0.0132	0.5820	14.63
2	480	0.2741	0.0026	0.2715	8.42
3	480	0.1284	0.0009	0.1275	0.80
4	480	0.7258	0.0052	0.7206	4.47
5	480	0.6655	0.0009	0.6646	4.12
6	482	0.7033	0.1215	0.5818	3.61
7	480	0.4437	0.1112	0.3324	2.06
8	482	0.8996	0.0214	0.8782	8.90
Total amounts of carbohydrates					47.01

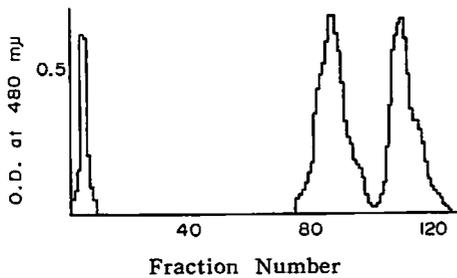


Fig. 3 Separation of sugars extracted from strawberry

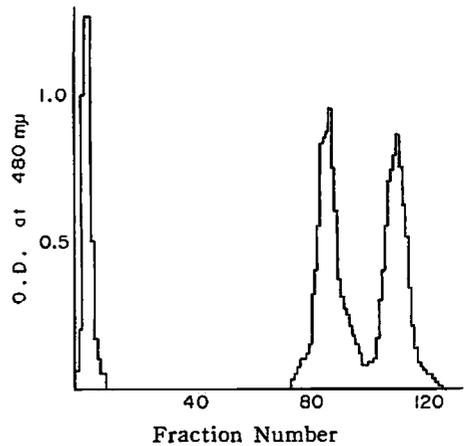


Fig. 4 Separation of sugars extracted from white asparagus

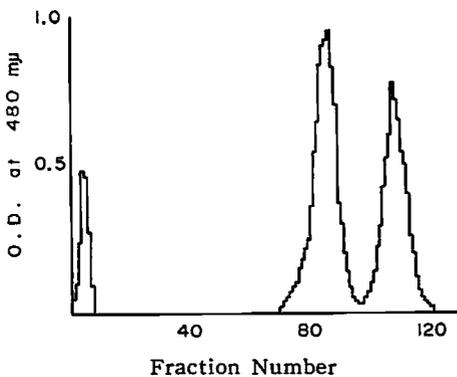


Fig. 5 Separation of sugars extracted from pimento

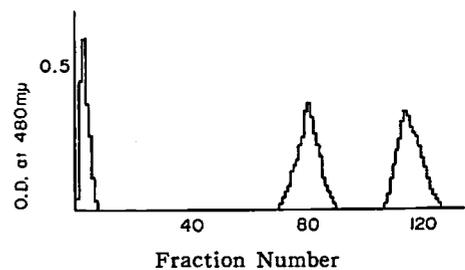


Fig. 6 Separation of sugars extracted from cauliflower

6. マッシュルームの炭水化物組成

マッシュルームの炭水化物については報告が少なく、わずかに McConnell⁵⁾らによって 1947 年一般分析結果としてマンニット、グルコース、グリコーゲンおよびヘミセルローズを検出定量し

Table 11 Composition of sugars in some vegetables

Vegetable	Sucrose	Fructose	Glucose	Trehalose	Sugar/Carbohydrate ×100
	%	%	%	%	
strawberry	9.53	28.24	21.83	—	82.1
pimento	5.10	19.02	16.26	—	60.8
white asparagus	3.10	18.64	13.63	—	59.5
couliflower	3.64	6.08	4.92	—	31.1
mushroom	—	—	—	3.71	8.4

たものと、Hughes ら⁶⁾によって1958年に子実体の加水分解物の糖組成をペーパークロマトグラフィによって検出確認した程度である。

マッシュルーム子実体の炭水化物分別定量の結果は Table 12 に示すように炭水化物含量は、44% で全炭水化物中40% はマンニットである。ヘミセルローズ20%、グリコーゲン15% が主な多糖類であった。

Table 12 Analysis of carbohydrates in the cultivated mushroom

Fraction number	Max. wave length m μ	Absorbance at 480 m μ			Carbohydrates %
		x ₁	x ₀	X	
1	480	0.7399	0.0097	0.7302	3.71
2	480	0.4001	0.0168	0.3833	2.38
3	480	0.1487	0.0035	0.1452	0.90
4	480	0.5884	0.0467	0.5414	6.71
5	482	0.4089	0.0362	0.3727	2.31
6	482	0.5686	0.0915	0.4771	2.96
7	482	0.5287	0.0555	0.4732	5.87
8	482	0.1612	0.0009	0.1603	1.63
mannitol	570				17.53
Total amounts of carbohydrates					44.00

遊離糖はトレハロースのみで、グルコースは検出されなかったが、遊離糖区分（フラクション1）を加水分解すると Fig. 7 のようにほぼ計算量のグルコースの生成を確認した。

トレハロースは Table 11 のように全炭水化物中8.4% にすぎなかったが、子実体が生長するとマンニットに変化するため子実体の収穫期によって変動が激しい。熱水可溶性区分（フラクション4）の加水分解物の構成糖は Fig. 8 および Table 13 のように主としてグルコースで主体はグリコーゲンであろうと推定された。

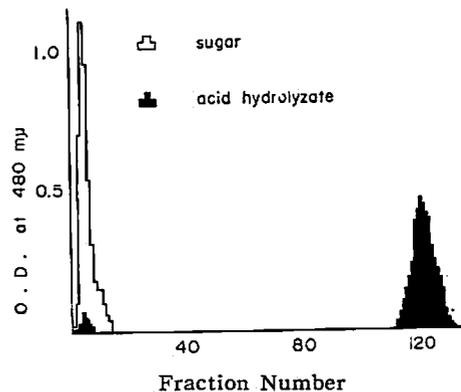


Fig. 7 Sugar in the cultivated mushroom

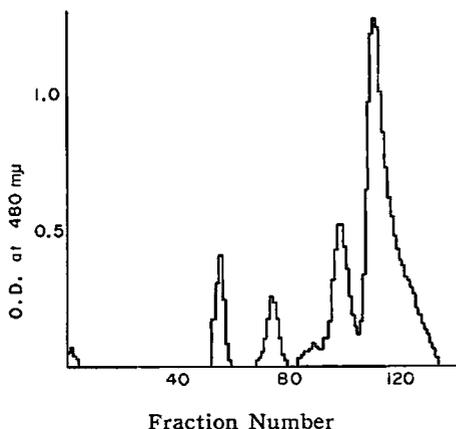


Fig. 8 Sugars in acid hydrolyzates of hot water extracts from mushroom

Table 13 Sugars in acid hydrolyzates of hot water extracts from the cultivated mushroom

Components	mg/g (moisture free basis)	Ratio
unknown	0.96	1.8
ribose	4.99	6.9
mannose	4.68	6.4
fructose	2.56	3.5
galactose	9.00	12.4
glucose	50.63	69.5
xylose	trace	—
Total amounts	72.82	100

要 旨

植物性炭水化物の分布を定量するために基礎事項について水野によって提案された微量分別法および Khyrn Zill らのイオン交換樹脂による糖の分別法を検討し、炭水化物の分別定量を実施し、主として缶詰用蔬菜類に応用した。

1. 質的に未知の糖類および多糖類に対し、便宜上次式より算出した。

$$\text{糖 類 } (\mu\text{g}) = 96.55 \times \dots\dots\dots (1)$$

$$\text{多糖類 } (\mu\text{g}) = 124.01 \times \dots\dots\dots (2)$$

但し $x = x_1 - x_0$

x_1 : 濾紙に包んだ試料抽出反応液の吸光値

x_0 : 濾紙抽出反応液の吸光値

2. イチゴ、ピメント、アスパラガス、カリフラワーの遊離糖は、いずれもグルコース、フラクトース、蔗糖のみで多糖類としてはセルロースが多い。マッシュルームでは遊離糖として、トレハロースのみで他にマンニットが18%存在し、多糖類としてはヘミセルロースやグリコーゲンが主な炭水化物組成であった。

水野の方法を基礎としたこの炭水化物系統的分別法は陸生植物体の糖類から多糖類にわたる各種炭水化物の分布を比較的容易に定量でき、しかも応用範囲が広く、すぐれた方法であると考えられた。

文 献

- 1) KHYM J. X. Zill L. P; J. Am. Chem Soc. 73 2399 (1951)
74 2090 (1952)
75 1339 (1953)
- 2) 水野卓; Bull. Agr. Chem. Soc. Japan. 20 116 (1956)
農化 32 340 (1957) 食品工誌 11 146 (1964)
11 396 (1964)
- 3) DUBOIS. M. et al. Anal. Chem. 28 350 (1956)
- 4) MONTGOMERY. R., Biochim. Biophys. Acta 48 591 (1961)
- 5) Mc CONNEIL. J. E. W., et al. Food Reserch 12 118 (1947)
- 6) HUGHES. D. H. et al. Agr. Food. Chem 6 850 (1958)