蕎麦種子の発芽時における糖の消長について

Changes of Sugar Contents and Free Sugars during the Germination of Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Mönch)

(昭和 41 年 9 月 8 日 受理)

高橋 美帆 下村 得治
(Miho Takahashi) (Tokuji Shimomura)

The present investigation was undertaken to see changes of sugar contents and free sugars during the germination of buckwheat.

As the result of germination, total sugar and polysaccharide decreased remarkably and soluble sugar and reducing sugar increased simultaneously, after a while each sugar content getting into a state of equilibrium.

Free sugar constituents of the seed and seedlings of various germination stages were determined by the use of paper chromatography and thin layer chromatography.

In buckwheat seed were found sucrose, raffinose and stachyose. During the germination these three sugars still continued to exist, while glucose, and a little later, fructose gradually appeared. Also in the latter half of the germination were found isomaltose and isomaltotriose (?).

The content of sucrose was in the highest degree of all the sugars throughout the process. The rates of raffinose and stachyose increased in the latter part of the germination.

緒 言

著者らは蕎麦の α -glucosidase の研究を行なっているがその際、蕎麦種子の発芽に伴う糖の変化についても検討を加えたので報告する。

植物種子の発芽時の糖組成の変化については米¹⁾、小麦²⁾、カラマツ種子³⁾、エンドウ豆⁴⁾の報告、D. Koller et al.⁵⁾の総説、中山⁶⁾の著書などがある。

その植物源によって糖の消長はやや趣きを異にしているようである。例えば、米、カラマツ種子、大麦では未発芽時には sucrose, raffinose, glucose が存在し、発芽後 raffinose は全く認められないと報告され、また最近、松下⁷⁾は蔬菜類の遊離の糖について、大部分の発芽種子には raffinose は認められなくなっていたと報告しているが、蕎麦では未発芽時に glucose は認められず、raffinose は発芽後も継続して認められた。また、米や大麦で発芽時に maltose の存在が報告されているが蕎麦では全く認められず、isomaltose の存在が認められたなどである。発芽時の isomaltose の存在については緑麦芽の報告⁸⁾があるが、澱粉分解酵素作用との関連性からも蕎麦種子の発芽に伴って isomaltose が一時的にあらわれるということは興味深いことに思われる。

sucrose が常に存在し、発芽に伴って glucose, fructose が増加する傾向にあるのは、いずれの種子でも同じようである。

実 験 方 法

1. 試料調製

1964 年度北海道産の蕎麦種子 (*Fagopyrum esculentum* Mönch) を用いた。種子を 0.5% さらし粉に 5 分間浸漬洗滌後、水に浮ぶ種子を除去して 26~28°C の暗所で発芽させた。各発育段階に応じて生長のよくそろったものを 50 本ずつ 2 組とり、洗滌後風乾、糖の分析に用いた。

2. 糖含量の測定

1) 全糖—風乾試料の 1 組を乳鉢で粉末とし、25% 塩酸 20 ml と水 200 ml を加えて煮沸している湯浴内で 2 時間半加熱、放冷後濾過、濾液を 10% 水酸化ナトリウムで微酸性に中和、全量を 500 ml とし、その一部をとり還元糖を Somogyi 変法⁹⁾で定量した。

2) 粗澱粉—3) の 80% アルコールで抽出した残査を全糖の場合と同様に加水分解を行ない糖を定量した。

3) 還元糖—他の 1 組の試料を粉末とし、80% 熱エ

タノールで 30 分間沸騰させ酵素反応を止め、抽出液を除いてさらに新しい 80% エタノールを加えて加熱抽出を 3 回繰返し、これらの抽出液をすべてあわせて減圧下に濃縮、酢酸鉛で除蛋白した後、滲液に酢酸カリウムを加えて鉛を除去、滲液の一定量を取り糖を定量、一部はさらに減圧濃縮しクロマトグラフィーで糖組成を検討した。

4) 可溶性糖—全糖から粗澱粉を減じたものを可溶性糖とした。

3. ペーパークロマトグラフィー (PC)

東洋滲紙 No. 50 を用い、展開剤はピリジン、ブタノール、水 (6:4:3) で 3 回多重展開を行なった。発色剤は酸性フタル酸アニリンとレゾルシンを使用した。

4. 薄層クロマトグラフィー (TLC)

クロマトプレートには Merck の Kieselgel G を用い、展開剤は、ブタノール、イソamilアルコール、水 (10:5:4) で 3 回多重展開を行ない発色剤にはアニスアルデハイドを用いた。

5. 遊離の糖の加水分解

stachyose, raffinose, isomaltose 区分の加水分解は、1 N 硫酸を 2~4% になるように各抽出液に適量加え、80~100°C で加水分解し、炭酸バリウムで中和し沈澱を滲去した。isomaltose 区分の酵素分解に用いた emulsin は市販 (東京化成) のものを用いた。

実 験 結 果

発芽に伴う蕎麦種子の糖含量の変化は Fig. 1 に示される。全糖、粗澱粉共に発芽以後、側根を生じ胚軸の長

Fig. 1. Changes in Sugar Content during the Germination.
Values are expressed as mg per one individual

さ約 $3 \sim 3.5 \text{ cm}$ まで (播種後約 4 日) 急激な減少を示し、同時に可溶性糖、還元糖が増加、4 日目以降はいずれもほぼ平衡状態にあることがわかった。生体の乾燥重量も全糖と同じような変化を示した。

各発育段階の遊離糖の組成を調べるために TLC と PC を行なった。その結果は Fig. 2, 3 に示される。TLC では glucose, fructose, sucrose, isomaltose, raffinose の位置とさらにその下に明らかなスポットを認め、他にも 2, 3 のスポットが認められたがそれらは、はっきりとした糖とは認め難かった。PC では、上述の糖 6 個のスポットと isomaltotriose と考えられるスポットが認められ一番下のスポットが stachyose に相当することがわかった。

またケトースに特有の発色剤である レゾルシンによって、fructose, sucrose, raffinose, stachyose に相当するスポットが明らかにケトース反応を呈した。さらに、raffinose, stachyose, isomaltose のスポットの部分で PC で分離、切抜いて水で抽出を行ない加水分解したところ Fig. 4 に示すように raffinose, stachyose 区分からは、fructose, glucose, galactose を生じ、isomaltose 区分からは、glucose を生ずることを認めた。このことより、raffinose, stachyose の存在することを確認したが、isomaltose は β -1,6 結合をもつ gentiobiose と同じ位置を示すことが知られている¹¹⁾ ので emulsin と酵母の α -glucosidase¹²⁾ を作用させたところ前者では全

Fig. 2. Thin-layer Chromatography of Free Sugars from Buckwheat during the Germination

Fig. 3. Paper Chromatography of Free Sugars from Buckwheat during the Germination

Fig. 4. Paper Chromatography of Hydrolysates of Raffinose, Stachyose and Isomaltose Fractions

く分解されず、後方で分解されたこと (Fig. 4) より、isomaltose と確認した。(なお、Fig. 2, 3, 4 のスポットの濃淡は同一抽出液中の濃度差のみを示している。)

以上の結果より、未発芽種子には sucrose, raffinose, stachyose が存在し、発芽後もこれら 3 種の糖は継続して存在し、さらに glucose と fructose が生じ、発芽中期 (播種後 2~5 日目) には isomaltose が、発芽後期 (播種後 3~10 日目) には isomaltotriose と考えられるスポットが認められることがわかった。fructose は glucose より遅くに現われ、また同一抽出液中の raffinose, stachyose の割合は発芽後期に高くなっていることがわかった。

要 約

蕎麦種子について発芽に伴う糖含量と糖組成の変化を検討した。

その結果、発芽に伴って全糖、粗澱粉が著しく減少、同時に可溶性糖、還元糖が増加、やがていずれも平衡状態になることがわかった。

糖組成をみると未発芽種子には sucrose, raffinose, stachyose が存在し、発芽後もこれら 3 種の糖は継続し

て存在し、この他に glucose とやや遅れて fructose が認められ、また発芽中期には isomaltose が、後期には isomaltotriose (?) が認められた。発芽全期を通して sucrose 含量は常に一番高く、発芽後期には raffinose, stachyose の割合が高まる傾向を示した。

文 献

- 1) 福井俊郎, 二国二郎: 農化, **33**, 72 (1959)
- 2) 寺岡 宏: 北星女短大紀, **6**, 62 (1960)
- 3) 服部静夫, 代谷次夫: *Arch. Biochem.*, **34**, 121 (1951)
- 4) H. Wanner: *Ber. Schweiz. botan. Ges.*, **60**, 426 (1950); **62**, 205 (1952)
- 5) D. Koller, A. M. Mayer, A. Poljakoff-Mayber & S. Klein: *Ann. Rev. of Plant Physiol.*, **13**, 451 (1962)
- 6) 中山 包: 発芽生理学, p. 97 (1960), 内田老鶴圃
- 7) 松下アヤコ: 農化, **40**, 289 (1961)
- 8) B. Drews, H. Specht & I. J. Pieper: *Chem. Abstracts*, **59**, 13316 (1963)
- 9) 小林達吉, 田淵武士: 農化, **28**, 171 (1954)
- 10) S. Chiba & T. Shimomura: *Agr. Biol. Chem.*, **26**, 787 (1962)
- 11) 山内文男, 松田和雄: 化学の領域, **18**, 689 (1964)

(北海道大学農学部農芸化学科)