ショ糖, ラフィノース, スタキオースの胃酸に相当する pH における分解

笠井 忠, 川村 信一郎

香川大学農学部農芸化学科

Hydrolysis of Sucrose, Raffinose, or Stachyose at pH Values Corresponding to Gastric Acidity

Tadasi Kasai, Sinitiro Kawamura

Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Kagawa
University, Mikityo, Kagawa

J. Jap. Soc. Food and Nutr., 24 (8), 442~445 (1971)

The soybean contains about 10% oligosaccharides consisting of 5% sucrose, 1% raffinose, and 4% stachyose and they are distributed among edible leguminous seeds. Among them sucrose is freely utilized by men and animals after enzymatic digestion into glucose and fructose, while raffinose or stachyose with one or two α -galactosyl linkages cannot be decomposed to simple sugars to be absorbed. However, the acidity of gastric juice may contribute in their hydrolysis. The pH of human gastric juice varies widely; normal values are 1.1-2.6. The gastric parietal cells secrete a fluid of constant composition, which is practically a pure solution of 0.17 N HCl (pH 0.87). Thus the hydrolysis of sucrose, raffinose, or stachyose was examined at various degrees of acidity of HCl (in the range of normal gastric acidity), and the hydrolyzates were identified as fructose and fructosyl-free reducing oligosaccharides by paper chromatography. By using the experimental values of reducing power of hydrolyzates and mixed standard sugars, 0.7-12.6% of raffinose and 0.57-9.36% of stachyose were found to be decomposed (as fructose) at pH 2.1-0.86 at 37°C after 3 hours.

(Received July 28, 1971)

大豆にはおもな糖類としてショ糖, ラフィノース, スタキオースがほぼ 5:1:4 の割合で含まれており, その総量は大豆無水物に対し, 米国産大豆で約 7~12%, 日本産大豆ではやや多く約 9~13% である¹⁾。また他の豆類にもこれらの少糖類は含まれており, さらにナンキンマメを除くとショ糖以外のものが多く, ベルバスコースやアユゴースも検出される²⁾。ラフィノース, スタキオース, ベルバスコース, アユゴースはそれぞれ 1, 2, 3, 4 個のガラクトシル基が α -1, 6 結合でショ糖のグルコシル基についた三, 四, 五, 六糖類である。また豆類以外にもこれらの少糖類はかなり分布している。それゆえこれらの食品を食べた場合にショ糖は消化吸収されるが, 他のガラクトシルサッカロースがどの程度吸収されるかは明らかでない。そこで著者らはこれらの少糖類を分解する酵素として大腸菌の α -ガラクトシダーゼ

(EC 3.2.1.22) を検索している³⁾。一方これらの少糖類の末端にある β -フルクトシド結合は水素イオンによっても触媒されて容易に加水分解することが知られている⁴⁾。

川村ら⁴⁾はショ糖, ラフィノース, スタキオースをそれぞれ pH 0.86, 1.10, 2.10 で 37°C に保ったときの分解率は, ラフィノースの場合にはそれぞれ 45.2, 32.9, 4.1% であることを観察している。

この報告においては胃液の酸濃度に近い塩酸で体温 (37°C) に 1.5, 3, 6 時間処理した場合のショ糖, ラフィノース, スタキオースの加水分解の程度を観察してみた。胃液の pH はかなりの幅で変化するといわれているが, 正常人では絶食時 2.2~2.7, 夜間 1.1~2.6, 食事中は 1.2~2.0 である⁵⁾ という。さらに胃壁で分泌される塩酸の pH は 0.87 であるともいわれている⁶⁾。そこで pH

0.5~3.0における分解率をこれらの少糖類について観察したので報告する。

実 験 方 法

1. 試料と加水分解

スタキオースは大豆から精製⁷⁾したものをを用いたが、他の少糖類ならびに試薬は市販のものをを用いた。

酸加水分解にあたり、あらかじめ pH 0.5, 0.86, 1.10, 2.10, 3.00の塩酸溶液（日立一堀場M 5 型 pH メーターにて調製）を37°C に加温しておく。少糖類（無水物）20 mg をふたつき試験管（φ15×100mm）に精秤しこれに塩酸溶液1.0ml を加えて溶解し37°C に1.5, 3.0, 6.0時間温置する。所定時間反応させた後直ちに中和に必要な量（あらかじめ求めておく）の水酸化ナトリウム溶液を加え、さらに pH メーターで正確に pH 7.0にし、さらに水を加え 10 ml にした。

2. 還元糖の測定

空試験（塩酸溶液の代わりに水）をも含め還元糖含有の少ないもの（pH 2.1 以上）はそのまま、還元糖含有の多いもの（pH 1.1以下）はさらに10倍に希釈したものから、1.0 ml をとり Somogyi 法⁸⁾で還元糖を測定した。同時に標準糖としてグルコース 0~200 μg, および 200 μg のラフィノースやスタキオースがフルクトシド結合のみ分解するとした場合の分解率0, 25, 75, 100%の加水分解物に相当する混合糖液（構成糖分子比から算出してラフィノースの50%分解のときはラフィノース 100μg, メリビオース67.2 μg, フルクトース35.4μg となり、スタキオースの50%分解のときはスタキオース 100μg, マンニトリオース 75.6μg, フルクトース 27.0μg, となる）についても同様に還元糖の測定を行なった。

3. ペーパークロマトグラフィー

還元糖測定後の試料液5.0 mlをイオン交換樹脂（Zero-lite 混合）を用いて脱塩し、さらに減圧濃縮（40°C 以下）して約0.5 mlにする。東洋ろ紙No. 50にこの濃縮液 10μl をスポットし、*n*-ブタノール：ピリジン：0.1*N*塩酸（5：3：2）で上昇法により2回展開し、3% *p*-アニジン水飽和 *n*-ブタノール液で発色して加水分解物を調べた。

実 験 結 果

1. 加水分解物の還元糖の測定

2%ショ糖、ラフィノース、スタキオースをpH 0.5, 0.86, 1.10, 2.10, 3.00で37°Cにそれぞれ1.5, 3.0, 6.0時間反応させた場合の還元糖の測定結果を Table 1 に示す。（3例の平均値）

2. 加水分解物のペーパークロマトグラフィー

ラフィノースとスタキオースを3時間反応させたもの

Table 1. Changes of reducing power(O. D.)after hydrolysis of sucrose, raffinose, and stachyose at the pH range of gastric fluid

	Incubation (hr.)	pH				
		0.50	0.86	1.10	2.10	3.00
Sucrose	1.5	0.590	0.240	0.143	0.014	0.005
	3.0	0.820	0.525	0.310	0.029	0.008
	6.0	0.825	0.785	0.656	0.051	0.016
Raffinose	1.5	0.215	0.117	0.068	0.006	0.002
	3.0	0.500	0.222	0.129	0.012	0.003
	6.0	0.610	0.415	0.259	0.024	0.006
Stachyose	1.5	0.193	0.086	0.050	0.005	0.001
	3.0	0.375	0.161	0.098	0.010	0.002
	6.0	0.446	0.342	0.200	0.019	0.005

20 mg of oligosaccharide was hydrolysed in 1.0 ml of HCl solution at 37°C

についてペーパークロマトグラフィーを行なってみると Fig. 1 のようなスポットが認められた。pH 0.5 の場合にわずかにガラクトースの遊離が観察されるが、グルコースやガラクトースのスポットは明確ではなかった。スタキオース分子の両端のフルクトースとガラクトースのとれたメリビオースのスポットはわずかに認められた。他の pH の場合にはいずれもフルクトースと残糖、残基で他のスポットは認められなかった。

Fig. 1 Paper chromatogram of hydrolyzates. 20mg of sugars were incubated in 1.0ml HCl at 37°C for 3 hours. Solvent system: *n*-butanol-pyridine-0.1 *N* HCl (5:3:2), ascending (twice); staining reagent: *p*-anisidine-HCl.

Fig. 2. Mixed reducing sugars (O.D. at 530 mμ) corresponding to the hydrolyzate from raffinose (⊙) or stachyose (○). The mixing ratios are based on 100% hydrolysis i.e. total fructose has been liberated and the other reducing oligosaccharide is melibiose or manninotriose, respectively.

3. 混合糖液の還元糖の測定と遊離フルクトースの算出

上記の結果からラフィノースやスタキオースは主としてフルクトースの遊離が起こると考え、200μgのラフィノースやスタキオースの分解物に相当する糖混合液について還元糖を測定すると Fig. 2 のように分解割合に対して測定値が正比例する。そこで Table 1 の値からつぎの式によりラフィノースおよびスタキオースから遊離するフルクトースの割合 (w/w) を算出した。

$$P = R/M \times 1/N \times 100$$

P: もとの糖に対する遊離フルクトースの割合(%)

R: 試料還元糖測定の吸光度

M: 試料糖液が完全にフルクトースを遊離したものに相当する糖混合液の還元糖測定の吸光度

N: 試料糖構成分子の単糖数 (Raf=3, Sta=4)

算出結果は Table 2 のようになった。ラフィノースやスタキオースが上記のような加水分解3時間ではそれぞれ0.7~12.6, 0.57~9.3%の単糖(フルクトース)を遊離することになる。

考 察

胃液に相当する pH の塩酸で少糖類を加水分解した場合

Table 2. The rates (w/w%) of fructose liberated from raffinose or stachyose

	Incubation (hr.)	pH			
		0.86	1.10	2.10	3.00
Raffinose	1.5	6.7	3.9	0.32	0.09
	3.0	12.6	7.4	0.70	0.17
	6.0	23.6	14.3	1.38	0.34
Stachyose	1.5	4.98	2.89	0.29	0.06
	3.0	9.32	5.67	0.57	0.13
	6.0	19.8	11.58	1.01	0.26

The rates (w/w%) of liberated fructose were calculated from the equation described in the text.

Fig. 3. Reducing sugars vs. concentration of HCl. The concentration was calculated from theoretical value of pH as 100% dissociation of HCl. Sucrose (●), raffinose (⊙), or stachyose (○) was incubated for 1.5 (---), 3.0 (—), or 6.0 (.....) hours.

合の還元糖の増加を塩酸濃度についてみると Fig. 3 のようになる。この塩酸濃度は塩酸が完全に解離するものとして算出したものであるが、還元糖の少ないときには酸濃度に比例して直線となる。また同一濃度のショ糖、ラフィノース、スタキオースのように二、三、四糖類となるに従って直線範囲にある還元糖量が少なくなっている。加水分解物のペーパークロマトグラフィーからガラクトースの遊離は pH 0.5 以外ではみられない。このようなことからこれら少糖類では構造的にショ糖を形成す

る β -フルクトシド（または α -グルコシド）と α -ガラクトシド結合部位とで酸加水分解速度が大きく異なり、後者の場合の分解速度が非常に小さく、主としてフルクトースの遊離のみが起こるものと考えられる。またショ糖形成結合部位は同一濃度のショ糖、ラフィノース、スタキオースではそれぞれ 1, 2/3, 2/4 となる。したがって直線範囲にある還元糖量が少なくなることはショ糖基の濃度が小さいためと考える。このこと以外にショ糖とラフィノースのフルクトシドの酸加水分解速度は後者が小さいがその差は大きなものでない⁹⁾。

消化液インペルターゼは β -フルクトシダーゼ (EC. 3.2.1.26) とされているのでガラクトシルサッカロースには全く作用しない。しかし Table 2 からラフィノースやスタキオースが胃液中に 3 時間存在すればそれぞれ 0.7~12.6, 0.57~9.3% の糖（フルクトース）を遊離することになり胃酸によって直接消化しうる。またフルクトシル基の失われた還元性少糖類であるメリビオースやマンニトリオースは微生物の α -ガラクトシダーゼによってガラクトースとグルコースに分解されると考えられるが *E. Coli* の α -ガラクトシダーゼの性質¹⁰⁾などからフルクトースのとれた残基がもとの糖よりも酵素作用をより容易に受け二次的な間接的消化が容易となる。

要 約

大豆など豆類に含まれる少糖類のうちその約半分あるいはそれ以上に相当するラフィノース、スタキオースなどを分解する酵素が消化液中にはないとされている。しかし腸内には微生物が生存する。また胃液が酸性であるからこの糖類になんらかの影響があると考え胃液の酸に相当する塩酸酸性 (pH 0.5~3.0) で 37°C, 1.5~6.0 時間この少糖類標品を加温してその変化を還元糖の定量とペーパークロマトグラフィーにより調べた。その結果このような酸性ではフルクトースの遊離だけが起こったの

で、ラフィノース、スタキオースから種々の割合にフルクトースが遊離したものに相当する混合糖の還元糖定量値からこれら少糖類の遊離フルクトースの割合を算出すると、胃液中に 3 時間存在するとして、ラフィノースで 0.7~12.6%, スタキオースで 0.57~9.3% のフルクトースを遊離することになる。この程度は直接消化しうることになり、また残基の糖はもとの糖よりも微生物の影響を受けやすく、間接的消化の可能性も増大するものと考えられる。

実験に協力された三野那智子嬢に感謝する。

この報告の要旨は 1968 年 12 月 1 日高松市で行なわれた第 1 回日本栄養・食糧学会中国四国支部総会で発表した（要旨、*栄養と食糧*, 22, 63 (1969)）。

文 献

- 1) 川村信一郎, 多田 稔, 梶崎丁市: *栄養と食糧*, 19, 268 (1966)
- 2) 川村信一郎, 田主澄三, 荒木郁子, 笠井 忠: 第 21 回日本栄養・食糧学会講演 (1967 年 5 月 13—14 日), 要旨: *栄養と食糧*, 20, 145 (1967)
- 3) 川村信一郎, 笠井 忠, 田主澄三: 日本農芸化学会大会 (1968 年 4 月 1—4 日) 講演, 要旨, p. 213
- 4) 川村信一郎, 熊野靖彦, 田主澄三: *香川大農学報* 21, 114 (1970)
- 5) Leach, A. A.: *Biochemist's Handbook* (C. Long, ed.), p. 911 (1961), E. and F. N. Spon, Ltd., London
- 6) Cantarow, A. and Schepartz, B.: *Biochemistry*, 4th ed., p. 260 (1967), W. B. Saunders Co., Philadelphia and London
- 7) 笠井 忠, 川村信一郎: *香川大農学報*, 18, 9 (1966)
- 8) Somogyi, M.: *J. Biol. Chem.*, 195, 19 (1952)
- 9) Pigman, W.: *The Carbohydrates*, p. 490 (1957), Academic Press, New York
- 10) 川村信一郎, 笠井 忠, 田主澄三: 日本農芸化学会大会 (1968 年 4 月 1—4 日) 講演, 要旨, p. 214

(昭和 46 年 7 月 28 日受理)