完熟大豆の子葉・種皮・胚軸の炭水化物の組成

田 主 澄 三

香川大学農学部農芸化学科

Components of Various Carbohydrates of Cotyledon, Hull, and Hypocotyl of the Mature Soybean Seed

Sumizô Tanusi

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

J. Jap. Soc. Food and Nutr., 25 (2), 79~82 (1972)

Mature soybean seeds (var. Kyûshû No. 12) were fractionated into the 3 parts (Cotyledon, Hull, and Hypocotyl) and analyzed (Table 1). As the free sugars, only glucose was detected as the monosaccharide, and sucrose, raffinose, stachyose, and verbascose were determined in the three parts (Table 2). It was found that all of the three parts contained 0.2-0.4% of cold-water soluble polysaccharide, whose component sugars were galactose, glucose, mannose, arabinose, and xylose (Table 3). The hull contained 33.5% crude fiber (93% α -cellulose), while the cotyledon and hypocotyl contained about 2% crude fiber consisting of α -, β -, and γ -celluloses (Table 4). Even α -cellulose showed the presence of galactose, arabinose, mannose, and xylose besides glucose after hydrolysis, while β -cellulose consisted mainly of galactose and arabinose (Table 5). The hull contained only 0.01% starch, while the other two parts contained about 0.3% starch, as determined by enzymatic and colorimetric methods (Table 6). The hull and hypocotyl contained 3-4% pectic substance, while cotyledon contained only 1%. After hydrolysis these pectic substances gave not only galacturonic acid, galactose, and arabinose, but also fucose, xylose, and mannose in varying ratios according to the part of the seed (Table 7). Thus the methods for analyzing soybean carbohydrates have not yet been established.

(Received October 15, 1971)

大豆種子が発芽する時には、子葉の栄養源によりまず胚軸が伸び、種皮は水分吸収の作用などをもつ。そのために、これら3部分は異なる組成を有すると考えられるので、特に炭水化物に着目して、3部分の組成の違いを調べた。

実 験 方 法

1. 試料大豆

1968年産の九州12号を荒割したのち、ピンセットによって子葉、種皮、胚軸の3部分に分け、さらに32メッシュ以下に粉碎した。3部分の収率および一般分析値をTable 1に示す。なお炭水化物の定量にはエーテル脱脂した試料を用いた。

2. 遊離糖・水溶性多糖類

1. 抽出・精製 抽出はだいたい川村ら¹⁾の方法によ

Table 1. General analysis

	Cotyl- edon	Hull	Hypo- cotyl	Whole*
Yield of each part	90.95	6.75	2.30	
Moisture	8.56	11.24	9.44	8.76
On dry basis				
Ash	5.95	5.98	6.01	5.94
Crude fat	23.65	1.93	12.18	21.90
Crude protein**	41.10	16.40	36.97	39.36
Crude fiber	1.61	33.51	2.38	3.78
N-free ext.	27.69	42.15	42.49	29.02

* Based on the yield of each part.

** N-factor 5.71

った。脱脂試料に10倍容の80%エタノールを加え、湯浴中で1時間、2回、還流抽出し、遠心分離によって上澄液を得、さらに残渣をフェノール硫酸法で糖の反応がなくなるまで水洗した。抽出液と洗浄液を合わせ、除たん白後、減圧濃縮し、5倍量の99%エタノールを加え、一夜冷蔵庫に保ち、遠心分離し、上澄液を遊離糖、沈でんを水溶性多糖類とした。

各糖の分別定量には沪紙抽出法を用いた。東洋沪紙 No. 514 (40×40cm) に点着し、ブタノール-酢酸-水 (4 : 1 : 2) 系で3重展開し、一部を3%塩酸パラアニジン水飽和ブタノールで発色させ、糖に相当する部分を残りの沪紙から切り取り、水による自然流下法で36時間溶出した。糖の定量は、Somogyi 改良法⁹⁾、アンスロン法⁹⁾、レゾルシノール塩酸法⁹⁾、ダルコースオキシダーゼ・パーオキシダーゼ⁹⁾法を用いた。

2) 糖組成 水溶性多糖類は、上で得た沈でんを95%エタノールで洗浄し凍結乾燥によって粉末として得た。この粉末試料 20mg に72%硫酸 2ml を加え、4時間室温放置後、硫酸濃度が3%になるようにうすめ、湯浴中で3時間加水分解した。分解液は炭酸バリウムで中和後、減圧下で20ml 以下に濃縮し、20ml のピリジンを加え10分間室温で放置し、生じた沈でんを遠心分離によって除き、上澄液を減圧濃縮するとともにピリジンを除き試料糖液とした。

構成糖の定量には、遊離糖の場合と同様に沪紙抽出法を用いた。但し、展開溶媒は酢酸エチル-ピリジン-酢酸-水 (30 : 11 : 1 : 6) 系である。

3. 粗繊維

1) 定量 遊離糖を除いた残渣を常法⁹⁾に基づき1.25%の硫酸とカセイソーダで処理して、その残渣を粗繊維とした。

粗繊維を17.5%のカセイソーダで45分攪拌し、1-G-3 グラスフィルターで沪過し、残渣を α -セルロース、沪液に酢酸を加えて pH 4.0 にし、その時生ずる沈でんを β -セルロース、沪液に含まれるものを γ -セルロースとした。 α -と β -セルロースは熱水洗浄し凍結乾燥によって粉末としてえた。 γ -セルロースの値は、これらの値を粗繊維の値より差し引いて算出した。

2) 糖組成 α -と β -セルロースは、水溶性多糖類と同様の方法で加水分解し、糖組成も同じ方法で調べた。

4. デンプン

従来から用いられている過塩素酸抽出法とダルコアミラーゼとダルコースオキシダーゼ・パーオキシダーゼによる酵素法とを用いた。

1) 過塩素酸抽出法 McCready らの方法⁷⁾に基づいて52%過塩素酸を用いて抽出し、アンスロン法で定量した。

2) 酵素法 遊離糖を除いた残渣を凍結乾燥によって粉末にしたものを試料とした。試料 1g に0.05M 酢酸緩衝液 (pH 5.5)、45ml を加え、湯浴中で1時間抽出、冷却後、0.2% ダルコアミラーゼ溶液 (大阪工業試験所の辻阪博士提供) 5ml を加え、40°C で48時間処理した。遠心分離により上澄液を得、ダルコース量をダルコースオキシダーゼ・パーオキシダーゼ法⁹⁾によって定量した。

5. ペクチン様物質

1) 抽出・精製 過塩素酸によるデンプン定量に用いた残渣を凍結乾燥して試料とした。試料 5g に0.5% シュウ酸アンモニウム液 300ml を加え、85°C で24時間抽出し、上澄液を約100ml に減圧濃縮し、0.1N 塩酸エタノール溶液350ml を加え、室温で6時間加水分解した。沈でんを75%エタノールで洗浄し、熱水に溶かし、少量のアンモニア水を加えて煮沸した。遠心分離によって得た上澄液に0.1N カセイソーダ 50ml を加え、室温で12時間処理したのち、1N 塩酸で pH5.5 にし、1M 塩化カルシュウム 25ml を加えて、室温で1時間放置後煮沸した。沈でんを集め、沸騰水で塩素反応がなくなるまで洗浄し、ペクチン酸カルシュウムを得た。

2) 糖組成 得られたペクチン酸カルシュウムを檜崎ら⁹⁾の方法によって加水分解し、粗繊維と同じ方法で構成糖を分別定量した。ウロン酸の定量にはカルバゾール硫酸法⁹⁾を用いた。

実験結果と考察

1. 遊離糖

結果は Table 2 に示めすようで、単糖区分の呈色反応の結果、Bial 反応¹⁰⁾、レゾルシノール反応とともに陰性であることから、アルドヘキソースであることがわかった。さらに、ダルコースを標準曲線に用いてアンスロン

Table 2. Mono- and oligosaccharides
(% on dry basis)

	Cotyledon	Hull	Hypocotyl	Whole
Reducing sugar	0.23	0.26	0.22	0.23
Total sugar	10.64	1.93	15.27	10.16
Glucose	0.23	0.26	0.22	0.23
Sucrose	6.67	0.85	6.99	6.28
Raffinose	1.24	0.46	2.38	1.21
Stachyose	2.46	0.36	5.66	2.39
Verbascose	0.04	±	0.02	0.04

Determination was made by paper chromatography followed by aqueous extraction.

Chromatography: Multiple (3 times) ascending method was applied with butanol-acetic acid-water (4:1:2) as the developing solvent system.

反応, Somogyi 改良法, デルコースオキシダーゼ法で測定した値が, 全く同一となり, 単糖はデルコースのみであると断定した。

少糖類区分の Somogyi 反応は全て陰性であり, 還元性少糖類は存在しないことがわかった。非還元性少糖類がシュクロース, ラフィノース, スタキオース, それにベルバスコースであることは, 川村らの研究¹¹⁾によってすでに知られているので, 各々を標準として測定した結果, いずれも種皮に少なく (0.3~0.9%), 子葉 (1.2~6.7%) と胚軸 (2.4~7.0%) に多かった。

2. 水溶性多糖類

Table 3 に示すように, 3部分ともに 0.2~0.4% の水溶性多糖類が存在する。遊離糖の抽出に 80% エタノールと冷水を用いている川村ら¹⁾, 松下¹²⁾の値には, これら水溶性多糖類の値を考慮しておらず再考を要するものと思われる。事実, 糖液の精製過程において, 減圧濃縮をする時, 泡立現象を生ずることからも多糖類の存在が考えられる。

Table 3. Cold-water soluble polysaccharides and their component sugars (% on total sugar)

	Cotyledon	Hull	Hypocotyl	Whole
Yield*	0.25	0.23	0.38	0.25
Glucose	26.44	0.57	49.14	25.23
Galactose	52.28	21.74	29.57	49.74
Mannose	19.88	13.54	19.07	19.68
Arabinose	0.82	40.63	1.41	3.44
Xylose	0.38	23.52	0.81	1.91

* % on dry basis

Conditions of hydrolysis: The mixture of 2 ml/72% sulfuric acid and 20 mg sample was allowed to stand for 4 hours at room temperature, diluted to 3% in relation to sulfuric acid concentration, and refluxed for 3 hours.

The developing solvent system for chromatography: Ethyl acetate-pyridine-acetic acid-water (30:11:1:6)

構成糖を調べた結果, 川村ら¹³⁾の熱水可溶性多糖類の分解物中には, アラビノース, キシロース, デルコース, ガラクトースに加えて, フコースとラムノースが存在すると報告されているが, 冷水可溶性多糖類にはフコースとラムノースは存在しなかった。

川村ら¹⁾は, 遊離糖としてアラビノースが存在すると報告しているが, 水溶性多糖類の構成糖としてのアラビノースが, おそらく, 遊離糖の抽出・精製の間に遊離したのではなかろうか。同様に考えるなら, マンノースやガラクトースを遊離糖として検出されなければならないが, この研究では検出されなかった。おそらく結合の強

さの差によるのであろう。

3. 粗繊維

Table 4 に示すように, 種皮は, 粗繊維として 33% を含み, その大部分 (93%) は α -セルロースである。このことは, 種皮が環境からの種子の保護の役割を果たしていることを示している。これに反して, 胚軸と子葉では, 粗繊維としても約 2% しかなく, セルロースに乏しい肉質であることがわかる。

Table 4. Crude fiber and celluloses (% on dry basis)

	Cotyledon	Hull	Hypocotyl	Whole
α -Cellulose	1.05	30.31	1.66	3.03
β -Cellulose	0.37	1.42	0.39	0.44
γ -Cellulose*	0.19	1.78	0.33	0.31
Crude fiber	1.61	33.51	2.38	3.78

* Crude fiber - (α -cellulose + β -cellulose)

α -セルロースの構成糖は, デルコースのみであるはずであるが, それ以外の糖も検出された (Table 5)。このことより, 現在, 木材化学で定義されている 17.5% のカセイソーダに溶解しないものを α -セルロースとする方法を, 他の食品に応用するには問題がある。

Table 5. Component sugars of α - and β -celluloses (% on dry basis)

	Cotyledon	Hull	Hypocotyl	Whole
α -Cellulose				
Glucose	0.20	12.19	1.38	1.03
Galactose	0.75	11.73	0.18	1.48
Mannose	±	2.87	±	0.19
Arabinose	0.10	2.24	0.07	0.24
Xylose	±	1.28	0.03	0.12
β -Cellulose				
Glucose	±	±	±	±
Galactose	0.24	0.03	0.27	0.23
Mannose	±	0.03	±	±
Arabinose	0.11	1.12	0.10	0.17
Xylose	0.02	0.24	0.02	0.02

Conditions of hydrolysis are same as shown in Table 3.

4. デンプン

過塩素酸法と酵素法の間大きな差はなく, 胚軸と子葉にそれぞれ 0.3%, 種皮に 0.01% であった (Table 6)。川村¹⁴⁾の総説によると, 完熟大豆には, たいていの品種では, デンプンは存在しないが, この研究に用いた大豆の水分は 8.8% (Table 1) であるので, 完熟品と考えて良い。よって, 完熟大豆でも, この品種では, 全粒とし

Table 6. Starch (% on dry basis)

	Cotyledon	Hull	Hypocotyl	Whole
Enzymatic method*	0.31	0.01	0.28	0.29
Perchloric acid**	0.35	0.01	0.32	0.32

* Glucoamylase, glucoseoxidase-peroxidase

** 52% Perchloric acid, anthrone

て0.3%のデンプンを含むことを知った。

5. ペクチン様物質

炭水化物を可溶性無窒素物として算出した値(29.0%)と、各々を別々に定量した合計(14.5%)との間に大きな差があり、これら以外の炭水化物の存在を示している。その原因の一つと考えられるペクチン様物質を測定したが、Table 7 に示すように、全糖として1.3%しかなく、さらに他の物質が考えられる。

Table 7. Pectic substances and its component sugars (% on total sugar)

	Cotyledon	Hull	Hypocotyl	Whole
Fucose	±	65.37	±	
Xylose	10.33	7.67	12.57	
Arabinose	5.48	7.75	8.16	
Mannose	25.73	0.33	0.27	
Galactose	18.09	10.67	66.90	
Galacturonic acid	37.89	8.21	12.10	
Yield*	1.02	3.45	4.14	1.27

* % on dry basis

Conditions of hydrolysis: Sample 0.2 g was hydrolyzed with 20 ml N hydrochloric acid in a sealed glass tube by heating in boiling water for 2 hours.

構成糖としては、種皮にフコースが多く、胚軸ではガラクトースが多い。ガラクチュロン酸は子葉に多く他には少ない。Aspinall ら¹⁵⁾はシュウ酸アンモニウム抽出液中に、これら以外にラムノースを認めているが、ここでは検出されなかった。

いわゆるペクチン様物質は、主にガラクチュロン酸、ガラクトース、アラビノースからなるはずであるが¹⁶⁾、他にフコース、キシロース、マンノースを含み、その割合は三部分によって非常に違っていた。この点については菊池ら¹⁷⁾の研究もあり、再検討を要する。

要 約

1) 完熟大豆九州12号を胚軸・種皮・子葉の3部分に分け、炭水化物を定量した。

2) 単糖類はグルコースのみ(3部分ともに0.2%)であ

り、還元性少糖類は検出されず、非還元性少糖類はシュクロース(胚軸6.99, 種皮0.85, 子葉6.67%), ラフィノース(同じく2.38, 0.46, 1.24%), スタキオース(同じく5.66, 0.36, 2.46%), それに少量のベルバスコースであった。

3) 水溶性多糖類が3部分ともに0.2~0.4%存在し、アルコールと水による遊離糖の抽出液中に共存している。構成糖はガラクトースが最も多く、ダルコース、マンノース、アラビノース、キシロースを含む。

4) 粗繊維は種皮に最も多く33%であり、その93%が α -セルロースである。しかし、 α -, β -, γ -セルロースの分別法は再検討の必要がある。

5) デンプンは種皮には0.01%であるが、胚軸と子葉には約0.3%検出された。

6) ガラクチュロン酸、ガラクトース、アラビノースを主成分とするペクチン様物質が1.3%検出された。

この報告の要約は日本食品工業学会(1970. 4. 17, 東京・久保講堂)で発表した¹⁸⁾。

本研究にあたり、御指導いただきました川村信一郎教授に深く感謝いたします。

文 献

- 川村信一郎, 多田 稔, 檜崎丁市: 栄養と食糧, **19** (4), 268 (1966)
- 福井作蔵: 化学と生物, **3** (8), 432 (1965)
- 福井作蔵: 化学と生物, **3** (9), 484 (1965)
- 阿武喜美子, 瀬野信子: 蛋白質・核酸・酵素, **12** (12), 1102 (1967)
- 田主澄三, 川村信一郎: 香川大農学報, **21** (48), 110 (1970)
- 大嶽六郎: 栄養・食品実験書(上), 86 (1962), 地球出版(東京)
- McCready, R. M., Guggolz, J., Silveira, V. and Owens, H. S.: *Anal. Chem.*, **22**, 1156 (1950)
- 檜崎丁市, 藤本和昭: 香川大農学報, **16** (1), 73 (1964)
- 福井作蔵: 化学と生物, **3** (10), 549 (1965)
- 福井作蔵: 化学と生物, **3** (11), 597 (1965)
- 川村信一郎, 笠井 忠: 香川大農学報, **18** (1), 9 (1966)
- 松下アヤコ: 日農化会誌, **41** (12), 646 (1967)
- 川村信一郎, 檜崎丁市: *Agr. Biol. Chem.*, **25**, 527 (1961)
- 川村信一郎: 日食品工誌, **14** (11), 514 (1967)
- Aspinall, G. O., Begbie, R. and McKay, J. E.: *Cereal Science Today*, **12** (6), 226 (1967)
- 川村信一郎: 多糖類化学(江上不二夫編), 243, (1955), 共立出版(東京)
- 菊池忠昭, 石井茂孝, 福島男児, 横塚 保: 日農化会誌, **45** (5), 228 (1971)
- 田主澄三, 川村信一郎: 日本食品工業学会第17回大会研究発表要旨, 3 (1970)

(昭和46年10月15日受理)