の消失する迄の時間) は 300 分以上であり、他のものはそれ以下である。

要 約

グラニュー糖、白双、四温、三温、中双、中白等の市販砂糖各 2 種宛についてそれ自体及びそれによって作られたキャンデーの反射率を光電分光光度計によって測定し更に各々の pH 値並びにフォーミングによる安定度についてその性状を考察した結果を要約すれば

(i) 反射率の数値からそれぞれの D_{λ} と P_e を算出して C. I. E. 図表上に点を求めたが砂糖の方が大体に於いて一直線上に並ぶ時はそのキャンデーの方は略々一つのクロソイド (Clothoid) 曲線上に並ぶ様である。

更に又後者の漸近点と原点を結ぶ直線と前者の直線とは大体一致する様である。

(ii) C. I. E. 図表上の砂糖の点とキャンデーの点との距り方は砂糖の種類によって異なるが、同一種類の砂糖に於いては略々一致する様である。特にグラニュー糖、四温、中双等に於いて見受けられる。

(iii) 白双、三温、中白等に於いては上述の変化に異状が認められるが、これらのキャンデーの溶液は pH が 4.0 以下であり、かつキャンデー化の際の pH 低下が著しく又フォーミングテストに於いてその安定度はいずれも 300 分以上である。

(1) *Ind. Eng. Chem.* : 16, 1252 (1924).

(2) *Ind. Eng. Chem.* : Anal. Ed., May 15,

(3) J. A. Ambler : Methods for Determining the Uniformity of Quality of White Sugar (1935).

(4) E. K. Heator, J. G. Woodroof : *Food. Eng.*, 10, 24 (1952).

(5) O. Spengler, F. Tödt : *Z. Wirtschoftsg. Zuckerind.*, 85, 113 (1935).

(6) C. A. Browne, F. W. Zerban : *Sugar Analysis*, 614 (1941).

(7) G. L. Spencer, G. D. Meade : *Cane Sugar Hand book* (1945).

(8) 精糖技術研究会編 : 精糖便覧, 20 (1956).

(9) 小坪政恵 : *Bulletin of Faculty of Educa-*

tion. Kôchi University, 4, 55 (1953).

(10) 同上 : *Research Reports of the Kôchi University*, 3, 37 (1954).

(11) 大庭景利, 小坪政恵 : 農産加工技術研究会誌, III, 4, 210 (1956).

(12) 小坪政恵, 上柳富美子 : *Research Reports of the Kôchi University*, 4, 35 (1955).

(13) 小坪政恵 : *Bulletin of Faculty of Education, Kochi University*, 7, 61 (1955).

(14) 橘 芳実, 山本 明 : 島津自記色彩測定器 RC-II による粉末試料の測定, 応用物理学会全国大会発表 (1955).

(15) 鴨田 稔, 山根武雄 : *Refineris Technologists*, 4, 90 (1955).

果実中の遊離アミノ酸含有量に関する研究 (第 2 報)*

秋冬の果実について

松 下 ア ヤ コ (熊本女子大学栄養学教室)

昭和 32 年 6 月 6 日 受 理

緒 言

果実中の遊離アミノ酸の量的検討はその食品価値としての味及び栄養価等との関係で又植物生化学上からも興味あるものと考えられる。果実中の遊離アミノ酸についてはペーパークロマトグラフィによる麻生他⁽¹⁾等の研究があるが、定性的なもので定量的な研究は少いようである。著者は前報⁽²⁾で果実の遊離アミノ酸をイオン交換樹脂及びペーパークロマトグラフィを用いて分離し、呈色斑⁽³⁻⁵⁾抽出比色法により定量したが、引きつづき同様の方法により果実 26 種類中の遊離アミノ酸の含有量につき研究し若干の知見を得たのでここに報告する。

実 験 及 び 結 果

(1) 試料 : 試験に用いた果実は秋から冬に出廻る新鮮市販品を用いた。

(2) 試料の調製法 : 試料 300 g を乳鉢で圧砕しそれに 3 倍量の水を加え約 30 分振盪後 10° 前後で 24 時間静置する。これを圧搾濾過しその濾液に飽和の中性酢酸鉛を加えて生ずる沈澱を除き、その濾液に塩基性酢酸

* Studies on the Quantitative Determination of Free Amino Acids in Fruits. Part 2. On the Fruits in Autumn and Winter.

By Ayako MATSUSHITA (Department of Nutrition, Kumamoto Women's University)

第1表 Amberlite IR-120 によるアミノ酸の回収試験

	全窒素 添加量 (mg)	全窒素 回収量 (mg)	回収率 (%)	回収率 平 均 (%)
アルギニン	26.95 26.55	21.56 19.55	80.0 75.1	77.5
ヒスチジン	20.00 19.52	16.02 15.63	80.1 80.4	80.3
ロイシン	7.27 7.25	7.27 7.17	100.0 98.9	99.9
バリン	7.42 7.40	7.41 7.25	99.8 97.9	98.8
アスパラギン酸	7.95 8.16	8.56 9.63	107.6 110.8	109.2
グルタミン酸	7.34 7.30	7.69 8.19	104.7 112.2	108.4

水洗後 1% HCl 液で溶出してこれを前同様に 10 ml に容定したものも ペーパークロマトグラフィの試料とした。

(3) イオン交換樹脂によるアミノ酸の回収試験：濃度約 50 mM のアミノ酸溶液 10 ml を Amberlite IR-120 を用い試料の場合と同様の方法で測定した時の回収率は第1表の通りである。回収率の測定はマイクロケルダール法により全窒素の定量を行った。尚塩基性アミノ酸の回収率は低く出たが Amberlite IRC-50 を通して得られた試料について展開及び発色操作を行った結果ではアミノ酸のスポットをみとめなかつたので、これについての回収試験は省略した。

(4) この研究に用いたペーパークロマトグラフィ：

装置：直径 19 cm, 高さ 23 cm のガラス製円筒 2 個をスリ合せの部で上下に重ねた密閉器中で二次元上昇法により実施した。

溶剤：第1次元……水 15% を含むフェノール（再蒸溜品）

第2次元……*n*-ブタノール・氷酢酸・水（4:1:5）の混合液で上層のブタノールに富む方を用いた。

濾紙：東洋濾紙 No. 50。

実施温度：12~15°。

呈色試薬：0.1% ニンヒドリン，アセトン溶液。

検出及び同定：展開終了後濾紙を乾燥しニンヒドリン試薬を撒布し 80~90° で加温発色させた。試料クロマト

第1図 アミノ酸の標準曲線

鉛を沈澱が生じなくなるまで加え、その濾液に硫化水素を通して過剰の鉛を沈澱させて除き、濾液を減圧濃縮して硫化水素を除く。この濾液を次に 5% HCl 液で活性化したイオン交換樹脂 Amberlite IR-120 に通してアミノ酸を吸着させ水洗し、糖、有機酸等を分離した後 5% NH_4OH 溶液で置換溶出し、これを減圧濃縮して 10 ml に容定しペーパークロマトグラフィの試料とした。尚ヴァンスライク法によるアミノ態 N の測定にはこの濃縮液に水を加えて 25 ml に容定したものをを用いた。又 Amberlite IR-120 の通過液及び洗液を酢酸緩衝液で pH 4.7 に調整した Amberlite IRC-50 に通して前法で吸着されなかつたアミノ酸を吸着させ

第 2 表 (A) 果実の遊離アミノ酸含有量

時 季	1月	12月	12月	2月	3月	2月	2月	2月	3月	12月中旬		12月上旬	
	下旬	月上旬	月上旬	月下旬	月上旬	下旬	下旬	下旬	月上旬	ダイダイ		ユズ	
	小蜜柑	温州蜜柑	サボ	金柑子	ネーブル	クネーブ	ハツサク	ブシカン	ボンカン	果肉	果皮	果肉	果皮
アスパラギン酸	0.28	1.22	7.70	2.42	0.81	0.49	1.31	0.90	1.10	6.80	6.40	2.71	0.48
グルタミン酸	0.80	1.10	2.05	1.44	0.74	0.79	0.92	0.91	0.99	2.72	0.91	1.79	0.43
セリ	1.54	0.89	1.41	0.99	1.46	0.81	0.93	1.16	1.97	2.20	3.49	1.27	0.41
アスパラギン	0.80	3.19	5.56	4.78	6.94	2.28	3.85	1.82	5.33	15.22	10.99	6.93	1.97
スレオニン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アラニン	0.28	0.91	3.40	1.55	0.97	1.30	1.97	0.74	1.31	3.21	4.57	3.33	0.97
グルタミン	14.66	6.21	3.73	12.63	9.33	7.15	5.96	9.61	13.68	16.07	12.38	8.98	2.96
プロリン	10.64	4.86	5.53	5.68	11.32	5.22	7.28	9.16	9.13	14.40	6.66	10.43	4.69
バリン	1.92	1.79	4.62	5.35	2.04	0.85	2.32	2.96	4.49	3.90	5.40	1.69	1.29
ロイシン	1.85	+	+	+	1.80	1.65	+	+	2.43	2.61	3.09	+	+
アルギニン	+	3.76	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
チロシン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
γ-アミノ酪酸	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
シスチン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
グリシン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
フェニルアラニン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
リジン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
オキシリジン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
アミノ-N計	32.77	19.55	33.37	34.84	35.41	20.54	24.88	27.26	40.43	67.13	53.95	37.13	13.41
アミノ態N	23.07	23.93	28.75	29.42	24.42	16.00	17.60	19.33	31.57	54.58	47.94	27.56	8.72

註 1. 各果前 100 g 中の各遊離アミノ酸の α-アミノ-N (プロリンはイミノ-N) の mg 数で表した。+は存在するが少量のもの。

2. アミノ態 N の測定はヴァンスライク法による (果実 100 g 中の mg 数)。

第 2 表 (B) 果実の遊離アミノ酸含有量

時 季	12月中旬		3月上旬		3月上旬	10月上旬	10月上旬	12月上旬	12月上旬	12月中旬			
	キンカン		レモン		夏蜜柑	梨(20世紀)	葡萄	富有柿	シブ柿	萃		果	
	果肉	果皮	果肉	果皮						国光	紅玉	デリンヤス	ゴールデンデリンヤス
アスパラギン酸	1.27	2.88	1.19	1.28	3.21	2.76	1.24	+	+	0.89	1.47	1.16	1.13
グルタミン酸	1.83	+	0.69	+	1.79	1.48	3.26	+	+	0.34	0.49	0.76	0.37
セリン	1.96	2.04	0.97	0.15	0.60	1.27	1.32	0.40	0.38	0.22	0.34	0.24	0.54
アスパラギン	7.77	9.99	3.95	14.17	7.05	3.49	2.29			0.58	3.55	1.82	4.08
プロリン	4.47	11.89	3.63	1.66	2.17		3.08						
スレオニン	+	+	+	+	+	1.15	1.02	+	0.17	+	+	+	0.46
アラニン	1.53	1.24	0.15	1.29	1.26	1.29	2.91	+	+	0.43	0.48	0.41	0.69
チロリン								12.79	7.17				
グルタミン	12.28	12.00	5.35	7.05	9.26		3.44			2.82	2.89	3.66	5.37
バリン	2.91	3.74	1.23	1.99	1.71	1.27	1.39	1.44	1.30	0.39	0.81		0.76
ロイシン	2.59	2.50	0.87	2.77	2.85	1.74	1.35	+	1.50	0.90	0.37	0.91	2.29
チロシン		+		+			+	+	+	+	+		+
γ-アミノ酪酸	+	+	+	+	+	多	多		+	+	+	+	+
シスチン	+	+			+	+							+
オキシプロリン						+							
β-アラニン							+						
アミノ-N計	36.72	46.28	18.03	30.36	29.91	14.45	21.30	14.63	10.52	6.57	9.77	8.96	15.69
アミノ態N	32.25	34.81	15.29	29.56	28.70	15.40	19.46	15.52	11.05	7.00	10.00	9.10	16.00

註 1. 各果実 100 g 中の各遊離アミノ酸の α-アミノ-N (プロリンはイミノ-N) の mg 数で表した。+は存在するが少量のもの。

2. アミノ態 N の測定はヴァンスライク法による (果実 100 g 中の mg 数)。

グラムの各スポットの判定は同条件で著者⁽²⁾が実験した標準クロマトグラムに於けるスポットの R_F 値及びそれらの相対的位置とを比較することによる外文献値^(6,7)を参考にした。又 0.5% 標準アミノ酸溶液を試料と並べてつけて同様に展開し R_F 値が一致することによっても確認した。

(5) 分離定量法: J. Awapara⁽⁵⁾ のペーパークロマトグラフィによる呈色斑抽出比色法を用いて定量した。濾紙 (27×27 cm) の原点にマイクロビベットを用いて 0.001 ml の試料をつけ二次元展開を行い濾紙を風乾後ニンヒドリン試薬を撒布し 80~90° で加温発色させ各発色部を稍広いために略同面積に切りとり細かく切つて試験管

に入れ 1% ニンヒドリン水溶液 2 ml, 10% ピリディン水溶液 1 ml を加える。これを沸騰水浴中で 25 分加熱し抽出と発色を完全にする。次に 10 ml のメスフラスコに移し微温湯で濾紙を洗って一定量にする。尚ブランクはクロマトグラム中の発色しなかつた部分からほぼ同一面積の濾紙を切りとり同様の操作によって得た溶液を使用した。次に島津の Photoelectric Spectrophotometer により 570 m μ に於ける透過率を測定し同様に操作して作つた標準曲線 (第 1 図(A), (B)) からアミノ酸の濃度を求めた。尚プロリン及びオキシプロリンは 440 m μ に於ける透過率を測定した。

(6) 果実の遊離アミノ酸の分布及び含有量：試験果実の遊離アミノ酸の分布を前記方法によって検出し、その含有量を定量した結果を第 2 表 (A), (B) に表示した。

考 察 及 び 要 約

(1) 遊離アミノ酸の分布：果実 26 種類中の遊離アミノ酸をイオン交換樹脂及びペーパークロマトグラフィにより分離検出した。これらの果実中に共通して存在するアミノ酸はアスパラギン酸、グルタミン酸、セリン、アラニン、バリンの 5 種類であったがアスパラギン、グルタミン、スレオニン等も 1, 2 の果実を除く全部の試験果実に含まれていた。其の他共通でないアミノ酸として γ -アミノ酪酸、ロイシン、チロシン、シスチン、グリシン等が見出されたが、 γ -アミノ酪酸、ロイシン、チロシンの 3 種類も可成り広く分布するアミノ酸であつた。

アミノ酸の種類は多いものとして小みかんに 16 種類、少ないものとしてユズに 8 種類、柿に 9 種類をみとめたが大體 11~12 種類のものが多かった。

(2) 遊離アミノ酸の含有量：アミノ酸の量的差異を求めるために上記アミノ酸のクロマトグラムについて呈色斑抽出比色法により定量を行った。アミノ酸の含有量はミカン類と葡萄に多く、リンゴ類 (ゴールドデンデリシャスを除く) と柿には少なかった。プロリンとグルタミンはミカン類に共通して含有量の著しく多いアミノ酸であつたが、プロリンはダイダイ、キンカン皮、ネーブル、小みかん、ボンカン等に目立つて多く、グルタミンはダイダイ、小みかん、ボンカン、金柑子、キンカン等に特に多く検出された。又柿にはチトルリンの含有量が他のアミノ酸に比して著しく多くアミノ酸含有量の 87% に達していた。又アスパラギンも柿を除いた試験果実のすべてに大體共通して多い成分であつたが、これはダイダイ (果肉と果皮)、レモンの皮、キンカン (果肉と果皮)、夏みかん、ネーブル、ユズ (果肉) 等に多かった。スレオニン、チロシンは試験果実のすべてに共通して含有量の少いアミノ酸であつた。

(3) アミノ態 N の含有量：アミノ態 N の含有量はダイダイ、キンカン、ボンカン、レモン (果皮)、金柑子、ザボン、夏みかん、ユズ等に多くリンゴ、柿等に少く検出された。

本実験に際して終始御懇篤な御指導を賜つた山田教授、又 Photoelectric Spectrophotometer 使用にあたり御援助を戴いた熊本通信病院の竹屋博士の方々に厚く御礼を申し上げる。

本研究は昭和 32 年 5 月 26 日、日本農芸化学会関西・西日本両支部合同大会にて報告した。

- (1) 麻生 清, 柴崎一雄：本誌, 28, 503 (1954).
- (2) 松下アヤコ, 山田 晃：栄養と食糧, 9, 210 (1956).
- (3) 丸田芳樹, 鮫島広年, 田中正生：本誌, 28, 775 (1954).
- (4) 赤堀四郎, 水島三一郎：蛋白質化学, 1, p. 209 (1954) 共立出版.

- (5) J. Awapara : *J. Biol. Chem.*, 178, 113 (1949).
- (6) R. Consden, A. H. Gordon, A. J. P. Martin : *Biochem. J.*, 38, 224 (1944).
- (7) 佐竹一夫：クロマトグラフィ, p. 105 (1955) 共立出版.