ニンの増加を認めた。

前項の事実とこの生菌に依る β -アラニン生成試験の結果から, アスパラギン酸の α -デカルボキシラーゼは *Sacch. sake* には存在しないか或い存在していても極めて微弱であろうと考えられる。これに反して *Pichia* にはアスパラギン酸 α -デカルボキシラーゼが存在していることを示している。

(4) 接種菌体量を $10^3 \sim 10^4$ に限定することに依って, アミノ酸とビタミンの関係を種々検討して来たが, 生菌体内 β -アラニン〜パントテン酸の含量から 10^7 以上の接種量では当然これ等の結果は見出せないことが認められた。即ち 10^7 個以上が接種されれば β -アラニンの要求量からだけでも生菌体自身の含む β -アラニンでアミノ酸の生育阻害打消は十分であるからである。

終りに臨み本研究を御指導賜りました恩師坂口謹一郎教授に深甚なる感謝を申し上げると共に, 御助言を戴いた有馬 啓教授, 並びに醸造学教室各位に御礼申上げる。また適切なる御注意を戴いた田村学造助教授, 角田俊直, 宮沢 滋の諸氏にも厚く御礼申し上げる次第である。更に *Pichia* 類を御分譲下さった太平山 K.K. 小玉健吉氏, 微生物定量を御援助下さった下島幸路嬢に感謝申上げる。

(尚本報告の一部は昭和 33 年 5 月京都に於ける農化大会で発表したものである。)

(1) 高橋雅弘: 本誌, 34, 83 (1960).

学会, 東京, Propionic acid Metabolism.

(2) A. L. Virtanen, T. Laine: *Enzymologia*, 3, 266 (1937).

(4) 高橋雅弘: 本誌, 28, 395, 398, 425 (1954); 30, 141, 146 (1956); 33, 23, 83 (1959).

(3) E. R. Stadtman, P. R. Vagelos: 国際酵素

蜂蜜及び花粉に関する研究 (第 3 報)*

ガマ (*Typha latifolia* Linné) の穂の花粉の糖組成について

渡辺敏幸, 元村佳恵, 麻生 清 (東北大学農学部農芸化学科)

昭和 35 年 5 月 9 日 受 理

著者等^(1,2)は数年前から蜂蜜の糖組成に関する研究を行っているのであるが, その糖組成をしらべると約 30 種の糖類が存在し, そのうち 20 種がケトースを含む糖類であることがわかり, こんなに多くの糖類が蜜蜂が集める花蜜中にあるのか, それとも蜜蜂の分泌する酵素や巣箱内での温度作用等による変移によるものであるかなどを確かめる一手段として原料採取し易く, そして花蜜と関連ある花粉の糖成分をしらべてみたのである。但し今回試料とした花粉はガマの穂の花粉 (黄色) であって蜜蜂の栄養飼料として主に販売されているもので, 主産地は愛知県で直接人手で採取されたものである。

花粉に関する研究は古くから行われており, 一般分析については市川⁽³⁾がアカシデの花粉について行った報告があり, 又関根等⁽⁴⁾の松の花粉についての報告があり, Vivino 等⁽⁵⁾が蜂が集めた花粉についての一般分析及びビタミンの定量を行った報告があり, 最近では久保⁽⁶⁾がつつじ科の植物について行った報告がある。又糖組成については古くは三宅⁽⁷⁾が花粉のアルコール抽出液, 水抽出液及び残渣についての定性試験の結果, グルコース, フラクトース, シュクロース, デキストリン, 澱粉及びヘミセルロースの存在を認め, ヘミセルロースはキシロース及びグルコースよりなることを報告している。又 Weygant 等⁽⁸⁾は 8 種の花粉を用いてグルコースとフラクトースの分離定量を行っている。上野⁽⁹⁾は松の花粉から濾紙クロマトグラフィー (PPC) によりグルコース, フラクトース, シュクロース, ラフィノース及びスタキオースを認めている。Nilsson⁽¹⁰⁾は松の花粉をエーテルで脂肪を除き水抽出, 除蛋白後イオン交換樹脂 Amberlite IR-120 及び Amberlite IR-4 B で処理してイオン性物質を除去後活性炭カラムクロマトグラフィー (Carbon CC) で糖を分別し, その糖組成を PPC でしらべ, グルコース, フラクトース, シュクロースの存在を指摘し, シュクロースについては遊離糖及びアセチル化物として

* Studies on Honey and Pollen. Part III. On the Sugar Composition of Pollen of *Typha latifolia* Linné.

By Toshiyuki WATANABE, Yoshie MOTOMURA and Kiyoshi ASO (Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Tohoku University)

結晶状に分離証明しており, 三, 四糖類についてはその存在を認めているが, 詳しく報告していない。

ガマの穂の花粉は蜂蜜と練って蜂に与えると産卵が進むといわれており, 又漢方薬, ねり薬などに用いられる関係上医学的, 薬学的見地からの研究も行われているが, その成分組成に関する研究は欧米では見当らず, 我が国では木村⁽¹¹⁾が α -Typhasterin を分離し, 桑田⁽¹²⁾がこれが高等植物に広く分布するジトステリンと同一物質であることを報告し, また服部等⁽¹³⁾もそれがジトステリン $C_{26}H_{50}O$ であることを純品との混融試験及び元素分析から証明しているが, 糖組成に関する研究は見当らない。

そこで著者等はガマの穂の花粉を一般分析し, 糖の PPC を行うと共に Carbon CC によってその糖を分別し, それらを PPC 及び濾紙電気泳動 (PI) で検討し, またその定量を行ったのでここに報告する。

実 験 の 部

1. ガマの穂の花粉の一般分析 ガマの穂の花粉を 200 メッシュの篩を通したものを分析試料とした。分析方法は実験農芸化学 (東京大学農芸化学教室編) に従って行った。水溶性糖の中全糖は 2.27% HCl で 2.5 時間水浴上加熱後中和 Bertrand-Henmi (B-H) 法で, 総転化糖は 0.1% HCl で 30 分水浴上加熱後中和 B-H 法で, 直糖はそのまま B-H 法で定量し, 全糖及び直糖はグルコースとして, 総転化糖は転化糖として算出した。その結果は第 1 表に示す通りである。

第 1 表 ガマの穂の花粉の一般分析 (単位%)

水 分	粗灰分	粗蛋白質	粗脂肪	澱 粉	水溶性全糖	総転化糖	直 糖
16.00	3.70	18.90	1.16	11.31	6.47	6.00	5.61
—	4.40	22.50	1.38	13.46	7.70	7.14	6.68

2. Carbon CC によるガマの穂の花粉の糖の分別 定性的にガマの穂の花粉を水で抽出し減圧濃縮したもの (No. 2) にスポットし, ビリジン:ブタノール:水=4:6:3 で展開し, アニリン・ヒドロジェン・フタレート (AHP) 及びレゾルシンで発色したが, グルコースとフラクトースのみしか認められなかった。それで花粉中の糖組成を更に詳しくしらべるために Carbon CC によって花粉の糖の分別を行った。

ガマの穂の花粉 200 g にエーテルを約 1 l ずつ 3 回に分けて加え振盪して油脂を除き, 風乾後, 蒸留水 2 l を加えて 6 時間室温でマグネティックスターラーで攪拌抽出後吸引濾過して得た濾液に酢酸鉛を加え, 一夜放置し, 吸引濾過後濾液に H_2S ガスを通して沈澱した PbS を除き, $NaOH$ 液で pH 6.0 に中和し, 減圧濃縮した後濃縮液にエタノールを 70 容量% になるように加え一夜放置し生じた沈澱を濾過し, 濾液をイオン交換樹脂 Amberlite IR-120 及び Amberlite IRA-410 を通して脱イオンした液を濃縮して 100 ml にしたものについて糖分析を行った結果, 総転化糖 4.37 g/100 ml, 直糖 4.23 g/100 ml という値を得た。

40×7.5 cm の硝子円筒に活性炭 (武田白鷺印精製品) 80 g と同量のセライト (No. 545) を混合して充填し, 上部からガマの穂の花粉の水抽出液を除蛋白, 脱イオンし 50 ml に濃縮したもの (総転化糖 4.10 g/50 ml) を注加し, 常法に従い水 (6 l), 2.5% (2 l), 5% (5 l), 10% (5 l), 15% (4 l), 20% (3.5 l), 25% (3.5 l) 及び 30% エタノール (5 l) で溶出を行った。溶出液は 500 ml 毎に分取し, 減圧下に約 10 ml に濃縮し, PPC 及び PI でその糖組成をしらべた結果は第 2 表に示す通りである。

PPC はビリジン:ブタノール:水=4:6:3 を展開剤として上昇法 1 回展開し, 発色試薬 AHP 及びレゾルシンで呈色した。又 PI は硼酸緩衝液 (pH 9.8), 電圧 600 V、電流 20~30 mA で 3 時間泳動, 風乾後醋酸酸性 AHP で呈色した。PPC 及び PI の際は標準の各種糖類を並行及び混合して展開, 泳動し, ラムノース, キシロース, フラクトース, グルコース, コーギビオース, ニゲロース, マルトース, イソマルトース, シュクロース, ツラノース, リュクロース, マルトトリオース, ラフィノースの各スポットと一致した。() 内の数字は上記の方法で PPC を行った時の R_F 値を示す。アラビノースは展開剤ビリジン:ブタノール:水=4:6:3 ではフラクトースと R_F が一致して判別しにくいので, フェノール:ブタノール:醋酸:水=20:20:8:40 の上層液を用いて上昇法 3 回多重展開し, 標準糖との比較から上記糖の他にアラビノースの存在を認めた。

第 2 表の結果からみてガマの穂の花粉中の糖としてラムノース, キシロース, アラビノース, フラクトース, グルコース, コーギビオース, ニゲロース, マルトース, イソマルトース, シュクロース, ツラノース, リュクロース, マルトトリオース, ラフィノース及びオリゴ糖 4 つを認めた。

また各フラクションについて糖の定量を行った。水及び 2.5% エタノール溶出部は B-H 法で定量しグルコー

第 2 表 Carbon CC によるガマの穂の花粉の糖の分別

フラク ション No.	溶出量 (l)	溶 出 剤	PPC 及び PI による糖組成	収 量 (g)
1~2	1	水		—
3	0.5	"	フラクトース, グルコース	3.635
4	0.5	"	キシロース, アラビノース, フラクトース, グルコース	
5~10	3	"	ラムノース, キシロース, アラビノース, フラクトース, グルコース	
11~12	1	"	ラムノース, フラクトース, グルコース	
13~14	1	2.5% EtOH	ラムノース, フラクトース, グルコース	0.044
15~16	1	"	ラムノース, ペントース(0.44)?, フラクトース, グルコース	
17	0.5	5% EtOH	ペントース(0.44)?, グルコース, オリゴ糖(0.18), イソマルトース	0.058
18	0.5	"	ツラノース, シュクロース, オリゴ糖(0.18), イソマルトース	
19	0.5	"	ツラノース, シュクロース, リュクロース, イソマルトース	
20	0.5	"	ツラノース, シュクロース, コージビオース, リュクロース, イソマルトース	
21~24	2	"	ツラノース, オリゴ糖(0.21), コージビオース, リュクロース, イソマルトース	0.023
25	0.5	"	ツラノース, オリゴ糖(0.21), コージビオース, イソマルトース	
26	0.5	"	オリゴ糖(0.21), コージビオース, イソマルトース	
27~31	2.5	10% EtOH	ニゲロース, マルトース, マルトトリオース, ラフィノース, オリゴ糖(0.02)	0.014
32~33	1	"	ニゲロース, マルトース, オリゴ糖(0.17), マルトトリオース, ラフィノース, オリゴ糖(0.02)	
34~36	1.5	"	ツラノース, ニゲロース, マルトース, オリゴ糖(0.17), マルトトリオース, ラフィノース, オリゴ糖(0.02)	
37~42	3	15% EtOH	マルトース, マルトトリオース	0.0024
43~44	1	"		0.0077
45~51	3.5	20% EtOH	オリゴ糖(0.07), オリゴ糖(0.02)	0.0099
52~58	3.5	25% EtOH	オリゴ糖(0.07), オリゴ糖(0.02)	
59~68	5	30% EtOH	オリゴ糖(0.07), オリゴ糖(0.02)	

第 3 表

溶 出 剤	溶 出 さ れ る 主 な 糖	溶出された量 (g)	割合 (%)
水	ラムノース, キシロース, アラビノース, フラクトース, グルコース	3.635	95.81
2.5% EtOH	ラムノース, フラクトース, グルコース	0.044	1.16
5% EtOH	コージビオース, イソマルトース, シュクロース, ツラノース, リュクロース	0.058	1.53
10% EtOH	ニゲロース, マルトース, マルトトリオース, ラフィノース	0.023	0.61
15% EtOH	マルトース, マルトトリオース	0.014	0.37
20% EtOH	オリゴ糖	0.0024	0.06
25% EtOH	オリゴ糖	0.0077	0.20
30% EtOH	オリゴ糖	0.0099	0.26

スとして算出した。5~30% エタノール溶出部は 2.27% HCl で 2.5 時間水浴上加熱, 中和後 Somogyi 試薬を用いて糖の定量を行い, グルコースとして算出した。その結果は第 2 表の収量のところに示す通りである。以上の結果から各フラクションで溶出された割合を算出すると第 3 表のようになる。

第 3 表の結果から, ガマの穂の花粉中の糖の割合をみると水及び 2.5% エタノールで溶出されるフラクトース, グルコース及びラムノース, キシロース, アラビノースの単糖類が全糖の約 97% で大部分を占めている。5% エタノールで溶出されるコージビオース, イソマルトース, シュクロース, ツラノース, リュクロースなどが約 1.5%, 10% 及び 15% エタノールで溶出されるニゲロース, マルトース, マルトトリオース, ラフィノースなどが約 1%, 20~30% エタノールで溶出されるオリゴ糖は約 0.5% で非常に少い。

ガマの穂の花粉の Carbon CC による糖の回収率は第 4 表の通りで 92.54% であった。

第 4 表

Carbon CC を通す前 4.10 g	Carbon CC を通した後 3.794 g	回収率 92.54%
--------------------------	----------------------------	---------------

次にガマの穂の花粉の糖の Carbon CC による溶出状態を図示すると第 1 図の通りである。

第 1 図の結果からみるとグルコース, フラクトース, ラムノース, キシロース, アラビノースなどの単糖類は水及び 2.5% エタノールフラクションで全部溶出され, コージビオース, イソマルトース, シュクロース, ツラ

第 1 図 ガマの穂の花粉の糖の Carbon CC による溶出状態

□ 発色試薬 AHP で呈色するもの ■ 発色試薬 AHP, Resorcin 共に呈色するもの
 スポットの呈色度の非常に弱いもの

ノース, リュクロースなどの二糖類は 5% エタノールフラクションで, ニゲロース, マルトース及びマルトトリオース, ラフィノースなどの二, 三糖類は 10% エタノールフラクションで, マルトース及びマルトトリオースの少量は 15% エタノールフラクションで, その他のオリゴ糖は 20~30% エタノールフラクションで溶出される。以上の溶出状態をみると, 先⁽²⁾に報告しているのと同様にグルコ二糖類は 1,6-, 1,2-, 1,4-, 1,3-結合の順に溶出されている。

以上でガマの穂の花粉中に 18 種の糖が認められたが, この糖組成を先に分析した各種蜂蜜^(1,2)と比較してみるとグルコースとフラクトースが主な糖成分であること及びコージビオース, ニゲロース, マルトース, イソマルトースの 4 種のグルコ二糖類並びにシュクロース, ツラノース, リュクロースなどのケトースを含む二糖類及びラフィノースの存在することは蜂蜜と同じであるが, 花粉中には蜂蜜で認められなかったラムノース, キシロース, アラビノースが認められた。又花粉中にマルトトリオースが認められたが, 蜂蜜ではまだ確認されていない。四糖類以上のオリゴ糖は蜂蜜の方がその種類含量共に花粉より多くなっている。又蜂蜜では約 30 種の糖のうち 20 種がケトース含有糖であるが, 花粉は 18 種の糖の中フラクトース, シュクロース, ツラノース, リュクロース及びラフィノースの 5 種で蜂蜜に比べるとケトース含有糖の数は少くなっている。

なおガマの穂の花粉の糖組成を検討するに当って著者等は花粉について水抽出を行ったが, 水溶液の場合には酵素作用も考慮しなければならないので, 今後は酵素作用の働かないアルコール抽出などによって糖組成の検討を行いたいと思っている。

要 約

(1) ガマの穂の花粉を一般分析した結果, 水分 16%, 粗蛋白 18.9%, 炭水化物 17.8%, 粗脂肪約 1.2%, 粗灰分 3.7% であった。

(2) ガマの穂の花粉の糖類を Carbon CC で分別し, それらの糖組成を PPC 及び PI でしらべた結果, グルコース, フラクトース, ラムノース, キシロース, アラビノース, コージビオース, ニゲロース, マルトース, イソマルトース, シュクロース, ツラノース, リュクロース, マルトトリオース, ラフィノース及びオリゴ糖 4 つを認めた。

(3) Carbon CC で分別した各フラクションの糖を定量した結果水及び 2.5% エタノールで溶出されるグルコース, フラクトース, ラムノース, キシロース, アラビノース等の単糖類が全糖の約 97% を占め, 5% エタノールフラクションで溶出されるコージビオース, イソマルトース, シュクロース, ツラノース, リュクロースなどの二糖類が約 1.5%, 10% 及び 15% エタノールで溶出されるニゲロース, マルトース, マルトトリオース, ラフィノースなどの二, 三糖類が約 1%, 20~30% エタノールで溶出されるオリゴ糖は約 0.5% で非常に少い。

(4) ガマの穂の花粉の糖組成を蜂蜜と比較するとグルコース及びフラクトースが主な糖成分であること及びコージビオース, ニゲロース, マルトース, イソマルトースなど4種のグルコ二糖類並びにシュクロース, シラノース, リュクロースなどの二糖類及びラフィノースの存在することは蜂蜜と同じであるが, 花粉では蜂蜜で認められなかったラムノース, キシロース及びアラビノースが認められる. 又四糖類以上のオリゴ糖は花粉の方が蜂蜜に比べ種類及び含量が少い. 又蜂蜜は約30種の糖の中20種がケトース含有糖であるが, 花粉では18種の糖の中5種がケトース含有糖でケトース含有糖が少い.

終りにガマののは花粉を分けていただいた岐阜市渡辺養蜂場の渡辺孝副場長に深謝する. また本研究費の一部は文部省科学研究費によったことを附記し感謝の意を表する.

(昭和35年6月4日, 日本農芸化学会東北支部小集会で講演)

(1) 麻生 清, 渡辺敏幸, 山尾曉子: 醸酵工学, 36, 39 (1958).	(7) 三宅 捷: <i>J. Biochem. (Japan)</i> , 3, 169 (1924).
(2) 渡辺敏幸, 麻生 清: 本誌, 33, 1054 (1959).	(8) F. Weygant, H. Hofmann: <i>Chem. Ber.</i> , 83, 405 (1950).
(3) 市川親文: 本誌, 12, 1117 (1936).	(9) S. Ueno: <i>Kagaku (Science)</i> , 24, 90 (1954).
(4) 関根秀三郎, 李 貞求: 学術協報, 16, 563 (1942).	(10) M. Nilsson: <i>Acta chem. Scand.</i> , 10, 413 (1956).
(5) A. E. Vivino, L. S. Palmer: <i>Arch. Biochem.</i> , 4, 129 (1944).	(11) 木村雄四郎: 薬誌, 50, 843 (1930).
(6) A. Kubo: <i>Japan. J. Botany</i> , 15, 15 (1955).	(12) 桑田 智: 薬誌, 57, 246 (1937).
	(13) 服部順五, 中村勝太郎: 薬誌, 60, 339 (1940).