[農化 第 36 卷, 第 10 号, p.805~809, 1962]

蜂蜜及び花粉に関する研究 (第 6 報)*

数種の花粉の糖組成について

元村佳恵, 渡辺敏幸, 麻生 清 (東北大学農学部農芸化学科)

昭和 37 年 3 月 20 日 受 理

著者等は数年前から蜂蜜の糖組成に関する研究を行っており, これまでに濾紙クロマトグラフィー (PPC), 活性炭カラムクロマトグラフィー (Carbon CC) 及びマグネソール-セライトカラムクロマトグラフィー (Mag. CC) などを用いて蜂蜜⁽¹⁻³⁾, 花蜜及び蜜囊中の蜜⁽⁴⁾の糖組成を調べたが, さらに花蜜や蜂蜜に関連のある花粉の糖組成も検討したいと考えた. 第 3 報⁽⁵⁾において直接人手で容易に採取され, 蜜蜂の栄養飼料として販売されているガマ (*Typha latifolia* Linné) の穂の花粉について一般分析, 糖の PPC, Carbon CC による糖の分別及び定量を行なった. その結果, ガマの穂の花粉の糖類としてサッカロース, グルコース, フルクトースの他にラムノース, キシロース, アラビノース, コーヅビオース, ニゲロース, マルトース, イソマルトース, 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 つを認めたことを報告した.

花粉に関する研究は古くから行なわれており, R. Lundén⁽⁶⁾ 及び R. Chauvin⁽⁷⁾ が化学成分についての綜説を書いている. また一般分析については市川⁽⁸⁾, Vivino⁽⁹⁾, 関根⁽¹⁰⁾, 久保⁽¹¹⁾, 酒田等⁽¹²⁾多くの研究者が種々の花粉について行なっている.

糖組成については三宅⁽¹³⁾, Weygant 等⁽¹⁴⁾, 上野⁽¹⁵⁾, Nilsson⁽¹⁶⁾, 水野⁽¹⁷⁾, 斗ヶ沢等⁽¹⁸⁾が主として PPC により検討を行ない, グルコース, フルクトース, サッカロース, キシロース, アラビノース, ラムノース, ガラクトース, デキストリン, ヘミセルロース, ラフィノース, スタキオース及びガラクトキロン酸を認めている. なかでも Nilsson⁽¹⁶⁾ はマツの花粉を Carbon CC で糖を分別し, その糖組成を PPC で調べ, グルコース, フルクトース, サッカロースの存在を指摘し, サッカロースについては遊離糖及びアセチル化物として結晶状に分離証明しているが, 三, 四糖類についてはその存在を認めているが, 詳しくは報告していない.

そこで今回はクロマツ, ヤマユリ, オニユリ, カボチャ, オオマツヨイグサの 5 種の花粉について, 一般分析 (クロマツ, ヤマユリ, オニユリの 3 種), 糖の PPC, PPC による糖の分離定量を行なうとともに, クロマツ花粉については Carbon CC によってその糖類の分別並びに定量を行ない, ガマの穂の花粉の糖組成と比較したのでここに報告する.

実 験 の 部

1. 花粉の一般分析 実験に用いた 5 種の花粉の採集時, 産地, 外観などは第 1 表に示すとおりである.

第 1 表 花粉の採集時, 産地及び外観

花 粉 源	学 名	採 集 時	産 地	色	形 状
ク ロ マ ツ	<i>Pinus Thunbergii</i> Parl.	1961 年 5 月	宮城県 井戸浜	黄 色	さらさらした細粒状粉末
ヤ マ ユ リ	<i>Lilium auratum</i> Lindl.	1960 7	宮城県 仙台	赤橙色	細粒状, 附着性大
オ ニ ユ リ	<i>Lilium lancifolium</i> Thumb.	1960 8	宮城県 仙台	赤褐色	細粒状, 附着性大
カ ボ チ ャ	<i>Cucurbita moschata</i> Durch var. <i>Toonas</i> Makino	1961 8	北海道 野幌	黄 色	細粒状, 附着性大
オオマツ ヨイグサ	<i>Oenothera Lamarckiana</i> Ser.	1960 8	宮城県 仙台	黄 色	細粒状, 附着性大

採集方法はオニユリ, ヤマユリ, オオマツヨイグサの花粉は開花期におしべの充分開いた葯を切り取って集め, 減圧乾燥して葯が乾いた時, 花粉を鳥毛ではらい落して集めた. カボチャの花粉は北海道野幌のカボチャ畑から開いた花を摘みとり, 中心の雄蕊より花粉をはらい落して減圧乾燥した. クロマツ花粉は散粉直前の雄花を茎ごと 37.95 kg 摘みとり, 穂花のみを集めると 31.29 kg あった. この穂花を室内で陰干して乾燥すると雄花が開

* Studies on Honey and Pollen. Part VI. On the Sugar Composition of Several Kinds of Pollen.
By Yoshie MOTOMURA, Toshiyuki WATANABE and Kiyoshi ASO (Department of Agricultural
Chemistry, Faculty of Agriculture, Tohoku University)

第 2 表 花 粉 の 一 般 分 析

	水 分 (%)	粗灰分 (%)	粗蛋白質 (%)	粗脂肪 (%)	粗澱粉 (%)	総転化糖 (%)	直 接 還元糖 (%)
ガ マ	16.00	3.70	18.90	1.16	11.31	6.00	5.61
クロマツ	9.12	4.46	17.01	2.50	2.46	4.72	1.91
ヤマユリ	4.20	3.87	25.10	17.05	1.36	10.51	10.09
オニユリ	2.68	4.11	21.00	12.26	3.57	11.46	11.31
	無水物中	4.40	22.50	1.38	13.46	7.14	6.68
	無水物中	4.91	18.72	2.75	2.71	5.19	2.10
	無水物中	4.13	26.76	18.18	1.45	11.20	10.76
	無水物中	4.22	21.58	12.60	3.65	11.77	11.62

いて花粉のみが粉末状になって落ちる。これを 100 メッシュの篩を通して花粉 2.7 kg を得た。クロマツ, ヤマユリ, オニユリの 3 種の花粉について第 3 報と同様の方法で一般分析を行なった結果は第 2 表に示すとおりである。
カボチャ及びオオマツヨイグ

サの花粉については試料が少ないために分析できなかった。第 2 表には比較のために、以前に著者等が分析したガマの穂の花粉の一般分析の結果をも併せて示した。

第 2 表の分析試料のうち、クロマツとガマの穂の花粉は風媒花花粉に属し、ヤマユリ及びオニユリの花粉は虫媒花花粉に属する。これら両者の成分的な相違は、虫媒花花粉では粗脂肪及び総転化糖、直接還元糖が風媒花花粉より多くなっている。第 1 表に示したように、虫媒花花粉の場合附着性が大きいことが目立っているが、この附着性は主として花粉の表面を覆っている脂肪性物質によるものであらうと思われ、虫媒花花粉をエーテルで抽出して粗脂肪を除去するとほとんど附着性を示さなくなり、風媒花花粉と同じようにさらさらした細粒状の粉末となる。

2. 花粉の糖の PPC 前記 5 種の花粉にそれぞれ 10 倍量の水を加えて水浴上で 30 分間加熱後濾過して得られた濾液を減圧濃縮したものを東洋濾紙 No. 2 にスポットし、フェノール：ブタノール：酢酸：水 (20:20:8:40) の上層液を展開剤として上昇法 3 回多重展開し、アニリン-ハイドロジェン-フタレート (AHP) で呈色した結果は第 1 図に示すとおりである。

第 1 図 花 粉 の 糖 の PPC
ガマ クロマツ オニユリ ヤマユリ カボチャ オオマツヨイグサ

第 1 図よりクロマツ花粉からはサッカロースのスポットのみが、その他ヤマユリ, オニユリ, カボチャ及びオオマツヨイグサの花粉からはいずれもフルクトース, グルコース及びサッカロースが認められた。またガマの穂の花粉からも同様に処理して前記 3 種の糖が認められた。

また前記の花粉の熱水抽出液を減圧濃縮してシラップとしたものに濃度が 85% になるまでエタノールを加え、生じた沈澱を濾別し、濾液を再び減圧濃縮して前と同様に PPC を行なったところ、熱水抽出の場合と全く同様の結果が得られた。

3. 花粉の各糖の分離定量 花粉中には主としてフルクトース, グルコース及びサッカロースの 3 種の糖類が存在することがわかったので、これらの糖類を PPC 法を用いて分離定量を行なった。前記花粉にそれぞれ 10 倍量の水を加えて 30 分間水浴上

で加熱後濾過した濾液を減圧濃縮してシラップ状とし、これに 85% 容になるようにエタノールを加え、沈澱物を濾別した濾液を再び減圧濃縮したものを東洋濾紙 No. 51 にスポットし、フェノール：ブタノール：酢酸：水 (20:20:8:40) の上層液を展開剤として上昇法 3 回多重展開を行なった。濾紙の左右を AHP で呈色し、濾紙の中央部の該当箇所を切り抜き水で溶出後、フルクトース及びグルコースの部分はそのまま、サッカロースの部分は 0.1% HCl で 30 分水浴上加熱後中和し、Somogyi 法で定量を行ない、各糖の百分比を算出すると第 3 表のようになる。

以上の結果、花粉中の 3 糖の割合をみると、クロマツ花粉ではサッカロースが著しく多いので目立つ。フルクトースとグルコースの割合はオニユリを除いてはややフルクトースの方が多くなっているが、ヤマユリ, オニユ

第 3 表 花粉の各糖の分離定量

		フルク トース (%)	グル コース (%)	サッカ ロース (%)
ガ	マ	43.84	34.62	21.54
ク	ロ	3.19	3.27	93.54
ヤ	マ	25.96	23.83	50.21
オ	ニ	21.52	24.81	53.68
カ	ボ	42.21	21.11	36.68
オ	オ	27.12	20.29	54.04

リではほぼ同量ずつ含まれている。カボチャとガマの穂の花粉はサッカロースが比較的少なく、またカボチャはグルコースに比べフルクトースが非常に多く、約 2 倍近い値を示している。これらの花粉中の糖類の含量割合は、花粉の収穫時期や貯蔵方法などによっても差異があるものと思われるので、これらの点については今後検討したい。

4. Carbon CC によるクロマツ花粉の糖の分別

クロマツ

花粉の糖を PPC で調べたところサッカロースとごく少量のグルコース、フルクトースが認められたが、クロマツ花粉の糖組成をさらに詳しく調べるために Carbon CC によるクロマツ花粉の糖の分別を行なった。

クロマツ花粉 1.65 kg をエーテルとともに振盪して表面の脂肪分を除き、風乾してエーテルを除去した後、80% 冷エタノールとともに振盪して 1 夜抽出後、濾過して得た濾液を減圧濃縮してシラップ状とし、これに水を加えて生ずる沈澱を濾別し、濾液を再び減圧濃縮して 500 ml としたもののついて糖の定量を行なったところ、総転化糖 99.60 g/500 ml, 直接還元糖 82.80 g/500 ml であった。

これを活性炭 (武田白鷺印精製品) 500 g と同量のセライト (No. 545) を混合して充填したガラス円筒の上部から注加し、常法に従い水及びエタノールで溶出を行なった。溶出液は 3 l 毎に分取し、減圧下に約 10 ml に濃縮し、PPC でその糖組成をしらべたが、糖以外の夾雑物が多く糖のスポットが明確に認められなかったので、二糖類以上の部分を全部集めて Carbon CC による糖の再分別を行なった。

3% エタノール溶出区分の終り No. 12 から 30% エタノール溶出部の終り No. 47 までは全部集めて減圧濃縮し、糖の定量を行なったところ全糖 4.56 g (グルコースとして算出), 直接還元糖 1.26 g (グルコースとして) であった。濃縮液を約 250 ml とし、中性酢酸鉛を加えて除蛋白し、遠心分離で沈澱を除去し、上澄液を中和して H₂S ガスを通し、生じた PbS を濾別し、濾液を中和して減圧濃縮し 100 ml とし糖の定量を行なったところ、全糖 2.69 g, 直接還元糖 0.72 g であった。

第 4 表 Carbon CC によるクロマツ花粉の糖の分別

(a)				
フラクション No.	溶出量 (l)	溶 出 剤	PPC による糖組成	収 量 (g)
1~2	6	水	フルクトース, グルコース, サッカロース	81.28
3~6	12	水	未知糖(0.99), フルクトース, グルコース, サッカロース	8.63
7~10	12	水	未知糖(0.99), サッカロース	2.04
11	3	2~3%エタノール	未知糖(0.99), フルクトース, グルコース, サッカロース	1.08
12~47	108	3%エタノール	未知糖(0.99), フルクトース, グルコース, サッカロース	4.57
(b) No. 12~47 区分 (3~30% エタノール溶出部) の Carbon CC による再分別				
フラクション No.	溶出量 (l)	溶 出 剤	PPC による糖組成	
1~13	6.5	水	サッカロース	
14~15	1	2.5~5%エタノール	ツラノース, サッカロース	
16~18	1.5	5% エタノール	ツラノース, サッカロース, マルトース, イソマルトース	
19	0.5	"	{ ツラノース, オリゴ糖(0.57), サッカロース, マルトース, オリ ゴ糖(0.38), イソマルトース	
20	0.5	10%エタノール	{ ツラノース, オリゴ糖(0.57), サッカロース, マルトース, オリ ゴ糖(0.38), イソマルトース, ラフィノース, オリゴ糖(0.23)	
21	0.5	"	{ ツラノース, オリゴ糖(0.57), サッカロース, マルトース, オリ ゴ糖(0.38), ラフィノース, オリゴ糖(0.23)	
22~23	1	"	{ ツラノース, オリゴ糖(0.57), サッカロース, オリゴ糖(0.38), ラフィノース, オリゴ糖(0.23)	
24~25	1	"	ツラノース, オリゴ糖(0.57), サッカロース, オリゴ糖(0.38)	
26~27	1	15%エタノール	ツラノース, オリゴ糖(0.57), オリゴ糖(0.38)	
28~29	1	"		
30~33	2	15~20%エタノール	オリゴ糖(0.25)	
34~50	8.5	20~30%エタノール		

これを活性炭 65 g と同量のセライト (No. 545) を混合して充填した 4×35 cm のガラス円筒に注加して、常法に従い水及びエタノールで溶出を行ない、溶出液を 500 ml 毎に分取して、減圧下に約 10 ml に濃縮し、PPC で糖組成をしらべた。この 2 回の Carbon CC による分別結果は第 4 表 (a) 及び (b) に示すとおりである。

PPC はピリジン：ブタノール：水 (4:6:3) を展開剤として上昇法 3 回多重展開し、発色試薬 AHP 及び尿素磷酸で呈色した。PPC の際は標準の各種糖類を並行及び混合して展開し、各スポットと一致した。() 内の数字は上記の方法で PPC を行なったときの R_F 値を示す。

また各区分について糖の定量を行なった。最初の Carbon CC による分別では水溶出部からフルクトース、グルコースの他にサッカロースが溶出されたため、各区分とも 0.1% HCl で 30 分水浴上加熱後中和し、Bertrand-Henmi 法で糖を定量し、グルコースとして算出した。2 回目の Carbon CC で分別したものの各区分についての糖の定量は行なわなかった。

第 4 表からクロマツ花粉中の主な糖であるサッカロースは第 1 回の Carbon CC では水溶出部から 3% エタノール溶出部あたりまで溶出され、グルコース、フルクトースは大部分水で、ごく少量 2~3% エタノールで溶出される。

二糖類以上のオリゴ糖区分の再分別の溶出状態をみると、5% エタノールでサッカロース、ツラノース、イソマルトース、マルトース、その他オリゴ糖 2 種 (R_F 0.57, 0.38), 10% エタノールでサッカロース、ツラノース、マルトース、イソマルトース、ラフィノース、その他オリゴ糖 3 種 (R_F 0.57, 0.38, 0.23) が溶出され、15% エタノールでツラノース、オリゴ糖 2 種 (R_F 0.57, 0.38), 15~20% エタノールでオリゴ糖 1 種 (R_F 0.25) が溶出され、それ以上のエタノール濃度では溶出される糖は認められなかった。

第 4 表 (a), (b) の結果からクロマツ花粉中の糖として R_F 0.99 の未知の糖、フルクトース、グルコース、サッカロース、ツラノース、マルトース、イソマルトース、ラフィノース及びオリゴ糖 4 つ (うちケトース含有糖 2 つ) を認めた。

5. クロマツとガマの穂の花粉の糖組成の比較 以上述べたようにクロマツ花粉には 12 種の糖類が認められたが、この糖組成を先に報告したガマの穂の花粉の糖組成と比較して両者に共通に認められる糖類はフルクトース、グルコース、サッカロース、ツラノース、マルトース、イソマルトース及びラフィノースで、ガマの穂の花粉中には 18 種の糖類が認められ、そのうち 5 種がケトース含有糖であったが、クロマツ花粉では 12 種の糖のうち 7 種がケトース含有糖でケトース含有糖が多い。

要 約

(1) クロマツ、ヤマユリ、オニユリの 3 種の花粉を一般分析した結果、ヤマユリ、オニユリなどの虫媒花花粉はクロマツ、ガマの穂などの風媒花花粉に比べて、粗脂肪、総転化糖、直接還元糖が多くなっている。

(2) クロマツ、オニユリ、ヤマユリ、カボチャ、オオマツヨイグサの 5 種の花粉の水溶性糖及び 85% エタノール可溶性糖の PPC を行なった結果、クロマツではサッカロースが主な糖であり、その他の花粉ではフルクトース、グルコース及びサッカロースの 3 種が主な糖であることを認めた。

(3) 上記 5 種の花粉の 85% エタノール可溶性糖について、PPC 法による 3 糖の分離定量を行なった結果、クロマツ花粉ではサッカロースが著しく多かった。またフルクトースとグルコースの割合はオニユリを除いてややフルクトースの方が多くなっているが、ヤマユリ、オニユリではほぼ同量含まれている。カボチャとガマの穂の花粉はサッカロースが比較的少なく、またカボチャはグルコースに比べフルクトースが非常に多くなっている。

(4) クロマツ花粉の糖類を Carbon CC で分別し、それらの糖組成を PPC でしらべた結果、フルクトース、グルコース、サッカロース、ツラノース、マルトース、イソマルトース、ラフィノースの他に 5 種の糖類を認めた。

終りにカボチャの花粉の採取に便宜を計っていただいた北海道酪農学園大学の樋浦誠学長並びに尾崎事務長に深謝します。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、感謝の意を表します。

(昭和 37 年 2 月 17 日, 日本農芸化学会東北支部例会で講演)

- (1) 麻生 清, 渡辺敏幸, 山尾暁子 : 醸酵工学, 36, 39 (1958).
- (2) 渡辺敏幸, 元村佳恵, 麻生 清 : 同上, 39, 433 (1961).

- (3) 渡辺敏幸, 麻生 清 : 本誌, 33, 1054 (1959).
- (4) 渡辺敏幸, 元村佳恵, 麻生 清 : 本誌, 35, 1038 (1961).
- (5) 渡辺敏幸, 元村佳恵, 麻生 清 : 本誌, 34,

- 704 (1960).
- (6) R. Lundén : *Svensk Kem. T.*, **66**, 201 (1954).
- (7) R. Chauvin : *Bee World*, **38**, 50 (1957).
- (8) 市川親文 : 本誌, **12**, 1117 (1936).
- (9) A. E. Vivino, C. S. Palmer : *Arch. Biochem.*, **4**, 129 (1944).
- (10) 関根秀三郎, 李 貞求 : 学術協報, **16**, 563 (1942).
- (11) A. Kubo : *Japan J. Botany*, **15**, 15 (1955).
- (12) 酒田和彦, 森谷清樹, 樋浦光男 : *J. Coll. Dairy Agriculture*, **1**, 95 (1961).
- (13) 三宅 捷 : *J. Biochem. (Japan)*, **3**, 169 (1924).
- (14) F. Weygant, H. Hofmann : *Chem. Ber.*, **83**, 405 (1950).
- (15) 上野実朗 : 科学, **24**, 90 (1954).
- (16) M. Nilsson : *Acta Chem. Scand.*, **10**, 413 (1956).
- (17) 水野 卓 : 日化, **79**, 193 (1958).
- (18) 斗ヶ沢宣久, 勝又悌三, 岩動悠子, 高橋睦子 : 本誌, **35**, 623 (1961); 斗ヶ沢宣久, 勝又悌三, 岩動悠子, 高橋睦子 : 昭和 36 年 4 月, 日本農芸化学会大会で講演.

[農化 第 36 卷, 第 10 号, p.809~813, 1962]

L-リジン発酵における異常現象 (第 1 報)*

異常発酵の実態および異常発酵の起因追究のための条件

重 藤 稔 (協和醸酵工業株式会社富士工場)

昭和 37 年 3 月 19 日 受 理

近代発酵工業では, 目的とする物質を生産する菌株を自然界から検索選択分離するという従来の単純粗朴な方法から一歩前進して, 在来の菌を人為的に変異させて目的とする物質を生産させる能力を持った菌株に変える方法に移ってきた。こうした傾向のため, 発酵工業では今後自然界に存在する野生株よりも, 栄養要求株を使用する機会が多くなってくるものと考えられる。しかし一面これらの変異株は変異を起す頻度が高く, 特に原株への復帰が起り易いと考えられ, この種の変異が栄養要求株を使用した場合の発酵の困難性とか, 菌株管理上の問題とか, あるいは菌株使用法での問題などが起ってくると考えられる。この種の人工変異株を使用することによって可能になった L-リジン発酵中に発酵異常現象が起ったが, この原因を追究中に上述の復帰変異の問題が生じたので, その解析を試みた結果についてここに報告する。

そもそも発酵法による L-リジンの生産に関しては種々の報告⁽¹⁻⁵⁾があるが, 著者は木下⁽⁶⁾らにより得られた栄養要求株である *Micrococcus glutamicus* 901 を使用して, L-リジン発酵の工業化に成功した。しかし, この発酵中に菌の生育が一時停止したように見受けられた後旺盛な増殖をし, L-リジンはほとんど生産されない異常発酵を経験した。L-リジン発酵での異常現象の原因と考えられる点は, 1) 種菌の汚染, 2) 発酵工程管理の欠陥, 3) 原料不良, 4) 菌の変調の 4 項目に大別できるが, 以上のような諸原因のうち, どれが真の原因であるか, またその工業的対策をどのようにすべきかという問題に関して検討した結果を順次述べていくこととする。

実 験 の 部

使用菌株は *M. glutamicus* 901 で, 培養方法は第 1 次種母培地としてブドウ糖 2%, ペプトン 1%, 肉エキス 0.5%, NaCl 0.25% のものと第 2 次種母培地としては甘蔗廃糖蜜 (全糖濃度として) 5% (甘蔗廃糖蜜は以後糖蜜と略す), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2%, コーンステープリカー (以後 CSL と略す) 5%, CaCO_3 1% の組成のものをを用いた。また, 主発酵培地は糖蜜を主炭素源として, 全糖濃度 20% になるように使用し, 脱脂大豆粕 (SBM と略す) を 6N H_2SO_4 で加熱分解し, アンモニヤ水で中和したものを SBM 乾物換算 1.8% 混合した組成のものをを用いた。

分析方法は, L-リジンの測定は *Bacterium cadaveris* の L-リジン脱炭酸酵素を用いる検圧法, pH は pH メーター, 菌体量の測定は比濁法, 糖の測定は Bertrand 法, 乳酸は *p*-hydroxy diphenyl を使用した。比色定量

* Abnormal Phenomena in the L-Lysine Fermentation. Part I. The States of Abnormal Fermentation and Pre-condition in order to investigate Abnormal Phenomenon.

By Minoru SHIGETO (Fuji Plant, Kyowa Fermentation Ind. & Co., Ltd.)