コーヒー豆の酵素処理に関する研究(第5報)

アラビノガラクトタンの推定構造

橋 本 揚 之 助

(大阪市立大学理学部)

昭和 45 年 7 月 25 日 受 理

Studies on the Enzyme Treatment of Coffee Beans

Part V. Structure of Coffee Arabinogalactan

By Yonosuke HASHIMOTO

Faculty of Science, Osaka City University, Osaka

The chemical structure of coffee arabinogalactan was studied by enzymatic and chemical methods. The arabinogalactan was hydrolyzed by a purified galactanase of *Rhizopus niveus*, and the products were separated by Sephadex G-15 gel filtration and paper chromatography.

Arabinose, galactose and a galactobiose were isolated in an approximately equal molar ratio. This galactobiose was identified as 6-O- β -galactosyl-galactose. Four other oligosaccharides were also found in the hydrolytic products in small amounts, and their structures were studied.

On the basis of these results, the structure of the arabinogalactan was discussed.

(Received July 25, 1970)

緒 言

アラビノガラクトタンは、松柏類に特異的に多く存在する水溶性多糖類である。その構造は、最初 White⁽¹⁾ により、次いで Bouveng⁽²⁾ によって西部カラマツのものについて検討された。そして、それはガラクトースが β -1,3 結合したガラクトタン主鎖のすべてのガラクトース残基にアラビノースあるいはガラクトースが側枝として結合していると推定された。また、Aspinall ら^(3,4) はヨーロッパカラマツのアラビノガラクトタンの構造を検討して、このものも西部カラマツと同じくガラクトースが β -1,3 結合した主鎖に β -1,6 結合でガラクトースやアラビノシルアラビノースが分岐していることを明らかにしている。

コーヒー豆には多量のアラビノガラクトタンが含まれており、その構造はすでに Wolf from ら⁽⁵⁾ によって研究されている。彼らは、これをメチル化して加水分解した結果、2,3,5-トリメチルアラビノース、2,4-ジメチルガラ

クトース、2,4,6-トリメチルガラクトースを 2:2:3 の比で生じたので、このものもカラマツのそれと似た基本構造であると推定している。しかし、その微細構造に関しては、なお検討すべき点が残されている。

著者は、先に *Rhizopus niveus* の生産するアラビノガラクトタン分解酵素系として β -galactosidase と 4 成分の galactanase を分離精製し、それらの酵素化学的性質を明らかにしているので⁽⁶⁾、これらの酵素を用いてアラビノガラクトタンの化学構造を検討した結果、その基本構造は Wolf from ら⁽⁵⁾ の提出したものと一致するが、側枝に若干の相異を認めたのでその結果を報告する。

実験材料および実験方法

1. アラビノガラクトタン 前報⁽⁶⁾に述べた方法で生コーヒー豆 (Santos) から調製した。

2. β -Galactosidase および galactanase *Rhizopus niveus* の麹菌抽出液を前報⁽⁶⁾のごとく、リバノー処理、塩析、Sephadex G-100 によるゲル濾過で精製

した。

Galactanase はゲル濾過で F-I, F-II, F-III, F-IV の 4 成分に分けられるが, 本実験では F-III 区分を使用した。

3. ペーパークロマトグラフィー 東洋濾紙 No. 51 を用い, *n*-ブタノール, ピリジン, 水 (6:4:3 v/v) を展開剤として多重展開によりおこなった。

4. オリゴ糖の過ヨウ素酸酸化 0.06 M のオリゴ糖溶液 4 ml に 0.03 M のメタ過ヨウ素酸ナトリウム溶液 80 ml と水 156 ml を加えて全量 240 ml とし, 5°C で反応させて経時的にその一部を採ってギ酸生成量と過ヨウ素酸の消費量を測定した。過ヨウ素酸の定量は Fleury-Lange の方法⁽⁷⁾でおこなった。

5. オリゴ糖の還元 前報⁽⁸⁾に述べた方法に準じておこなった。

実験結果と考察

I. アラビノガラクトンの酵素分解物の分析

アラビノガラクトンの 2% 溶液 50 ml に galactanase (40 u) を加えて, 40°C で 48 時間作用させたのち, エタノールを 70% になるように加えて, 生じた沈殿を遠心分離で除き, 上澄液は減圧濃縮して Sephadex G-15 によりゲル濾過をおこなった。それぞれの画分をさらにペーパークロマトグラフィーをおこなって生成糖を分別した。その結果は, Table I に示すように, アラビノース, ガラクトースおよび 5 種類のオリゴ糖が得られた。これらのオリゴ糖の分析結果を次に示した。

1) オリゴ糖 A

このオリゴ糖の重合度は 2 であり, 酸加水分解の結果アラビノースとガラクトースが 1:1 の比で生じた。こ

のものは β -galactosidase で分解されず, galactanase により分解された。また, 稲藁のアラビノキシランに作用してアラビノースを遊離させることが明らかにされている *Aspergillus niger* のヘミセルラーゼ標品⁽⁹⁾によっても分解された。これらの結果から, オリゴ糖 A はアラビノシルガラクトースであり, かつ稲藁のアラビノキシランと同じく α -アラビノフラノシッドであると考えられる。なお上記の結果から galactanase 標品には arabinosidase が混在していることが明らかとなった。

2) オリゴ糖 B

重合度は 2 であり, 酸加水分解によってガラクトースのみを生じた。過ヨウ素酸酸化によりオリゴ糖 1 mole 当り 5.96 mole の過ヨウ素酸を消費し, 4.27 mole のギ酸を生成した。 $[\alpha]_D$ は +31~+37° であった。 β -galactosidase により完全にガラクトースに分解された (Fig. 1)。以上の結果から, このオリゴ糖は Gal 1 $\xrightarrow{\beta}$ 6 Gal であると推定された。なお, galactanase はこのオリゴ糖には全く作用しなかった。

3. オリゴ糖 C

重合度は 3 であり, 酸加水分解の結果アラビノース, ガラクトースを 1:2 の比で生じた。 β -galactosidase では全く分解されないが, galactanase によりアラビノースとオリゴ糖 B を生成した (Fig. 2)。以上の結果から, アラビノースはオリゴ糖 B の非還元性側のガラクトース残基に結合していると考えられる。さらに, 過ヨウ素酸

Fig. 1. Products of the Enzymatic Hydrolysis of Oligosaccharide B.

Mixture of 2 ml of the oligosaccharide solution (10^{-3} M) and 2 ml of β -galactosidase (0.01 u) was incubated at 40°C. One milliliter aliquots of the mixture was taken at the indicated times and subjected to paperchromatography.

Table I. Products of the Enzymatic Hydrolysis of Coffee Arabinogalactan

Product	Yield (mg)	D. P.*	Constituent
Arabinose	120		
Galactose	116		
Oligisaccharide A	8.5	2	Ara (1), Gal (1)
B	205	2	Gal
C	8.0	3	Ara (1), Gal (2)
D	8.5	4	Ara (1), Gal (3)
E	53	4	Ara (1), Gal (3)
Polysaccharides**	400	—	Ara (1), Gal (3)

D. P.*=degree of polymerization.

** 70% ethanol insoluble fraction.

Fig. 2. Products of the Enzymatic Hydrolysis of Oligosaccharide C.

Mixtures of 2ml of the oligosaccharide solution (10^{-3} M) and 2ml of β -galactosidase (0.01 u) or of galactanase F-III (2 u) were incubated at 40°C.

酸化の結果、オリゴ糖 1 mole 当り 4.70 mole の過ヨウ素酸を消費し 3.80 mole のギ酸を生成したのでその構造は次の如く推定された。

4) オリゴ糖D

重合度は4であり、加水分解によりアラビノースとガラクトースを1:3の比で生じた。 β -galactosidaseによりガラクトースと未知のオリゴ糖を生成するが、galactanaseでは全く分解されなかった。また0.5~2.0 Nの

Fig. 3. Products of the Acid Hydrolysis of Oligosaccharide D and E.

Mixtures of 8ml of oligosaccharide D or E solution (2×10^{-4} M) and 2ml of various concentrations of HCl were kept at 4°C. After 20 hr the mixtures were deacidified on ion exchange resin Dowex-1 and subjected to paperchromatography.

HClを加えて4°Cで20時間放置し、その分解物をペーパークロマトグラフィーで調べた結果、いずれの酸濃度においてもアラビノースの遊離は認められなかった。これに対し、オリゴ糖Dと同じ組成ならびに重合度のオリゴ糖Eでは、同じ条件でアラビノースを遊離した (Fig. 3)。次に、オリゴ糖DをSodium borohydrideで還元したのち酸加水分解した結果アラビノースが検出されたので、還元末端はガラクトースであると考えられる。以上の結果から、このオリゴ糖に含まれるアラビノースはピラノース型であると考えられる。また、 β -galactosidase作用によってガラクトースを遊離し、galactanaseでは分解されないことや、酸分解によりオリゴ糖Bがわずかに検出されることから、その構造は、一応次のごとく推定されたが、これについてはさらに検討中である。

5) オリゴ糖E

重合度は4であり、酸加水分解によってアラビノースとガラクトースを1:3の比で生じた。 β -galactosidaseでガラクトースとオリゴ糖Cに分解され、galactanaseによりアラビノース、ガラクトース、オリゴ糖Bと少量のオリゴ糖Cを生成するが、最終的にはアラビノース、ガラクトース、オリゴ糖Bにまで分解される (Fig. 4)。この結果から、オリゴ糖Eはオリゴ糖Cに1分子のガラクトースが側枝として結合したものであると考えられ

Fig. 4. Products of the Enzymatic Hydrolysis of Oligosaccharide E.

Mixtures of 2ml of the oligosaccharide solution (2×10^{-3} M) and 2ml of galactanase F-III (2 u) or of β -galactosidase (0.01 u) were incubated at 40°C. One milliliter aliquots of the mixtures were taken at the indicated times.