は、P.P. Na+Su 処理以外は還元性の向上は認められなかったが、0.03 M 濃度では各前処理区とも良好なゲル形成能を示し、その順位は、P.P. Na+Su>C. Na>EDTA. N>P.P. Na>EDTA. Ac>対照区で、とくに P.P. Na+Su 処理区は、生肉から調整したものとほとんど変わらないゲル形成能を示した。また前処理区はいずれも吸水率の向上と良好な保水能を示した。

(2) 前処理区の凍結乾燥肉では、各処理区とも塩溶性蛋白区の溶出量の増加がみられ、粘度曲線の変化は(1)のゲル形成能の順位とよく一致していた。

なお以上の諸結果につき若干の考察を行なった。

本研究において御指導と原稿の御校閲を賜った東海区水産研究所田中武夫博士に厚く御礼申し上げます。

この研究の大要については1966年4月、日本食品工業学会第14回大会で発表した。

文 献

- 1) 平野 弘：日水産，22，345 (1956)。

- 2) CONNELL, J.J.: *J. Sci. Food Agr.*, 9, 526 (1957).
- 3) 上岡康達・岡 弘康・末光栄充：食品工誌，13，18 (1966)。
- 4) 岡村一弘：日水産，26，595 (1960)。
- 5) 岡 弘康・末光栄充・上岡康達：愛媛総指報，2，32 (1965)。
- 6) 木村 進：黒木証吉・片山 脩・塩入英次：真空化学，9，1 (1960)。
- 7) 橋本吉雄・安井 勉：日本畜産学会創立40周年シンポジウム講演要旨，56 (1964)。
- 8) 森地敏樹：日本醗酵工業学会大会，生物化学シンポジウム予講集，8 (1963)。
- 9) BROSTEAUX, J., ERIKSSON-QUENSEL, I.: *Arch. Physique Biol.*, 4, 209 (1935)。
- 10) 高橋豊雄・竹井 誠：東海水研，14，58 (1956)。
- 11) WISMER-PEDERSEN, J.: *J. Food Sci.*, 30, 85 (1965)。

(1966年6月1日受理)

クリの成分と加工法に関する研究(第2報)

クリの遊離糖について*

真 部 孝 明**

クリ果の一般成分および遊離糖に関して、松井ら¹⁾、岩田ら^{2)~4)}、奈良ら⁵⁾、などの報告があり、そのうち糖組成についてはイオン交換クロマトグラフィーによって、シュクロースを主体としてグルコースしか存在しないと報告⁵⁾されている。

本報ではクリ果から遊離糖を抽出し、ペーパークロマトグラフィー、カラムクロマトグラフィー、および溶解の差を利用した分別を行なって、従来知られているシュクロース、グルコースを再確認し、さらにラフィノース、フラクトース、マルトースを認め、ほかに2, 3のオリゴ糖を検出したので報告する。

実験方法

1. 材料およびその調製

* 愛媛県総合化学技術指導所業績第29号

** 愛媛県総合化学技術指導所(松山市宮西町75)

Studies on the Constituents and Processing Methods of Japanese Chestnut. Part II. Free sugars in Japanese Chestnut. By TAKAAKI MANABE.

クリ果は第1報と同じものを用いた。

鬼皮、渋皮ともステンレス製包丁を用いて剥皮し、細切り後、真空冷凍乾燥機(共和真空(株)製、RL-500 HS型)を用いて乾燥し、第1図に示す操作を経て遊離糖の白色粉末を得た。

2. 測定方法

(1) ペーパークロマトグラフィー

東洋汙紙 No. 50 および 51 を用い上昇多重展開法によって3回展開した。溶剤として n-ブタノール：エタノール：水=4：1：5，n-ブタノール：酢酸：水=4：1：5，n-ブタノール：ピリジン：水=6：4：3の3種を用い、発色はアニリンハイドロゲンフタレート、フロログルシノール塩酸を主として、アンモニア性硝酸銀も一部用いて行なった。展開溶剤の選定にグルコース、ガラ

第1図 クリ遊離糖の抽出

クトース、キシロース、アラビノース、フラクトース、ソルボース、マルトース、マンノース、シュクロース、セルビオース、ラフィノースの11種の糖を用いて検討したが、このうちガラクトースは乳糖を市販パン酵母で発酵させてグルコースを除き調整し、セロビオースは濾紙粉末からセルビオースオクタセタイト (m.p. 220°C) を作りついでナトリウム-メチラートによる脱アセチル化の方法によって調製した。

(2) カラムクロマトグラフィー

(i) カーボンカラムクロマトグラフィー

麻生らの方法⁷⁾に準じてつぎのようにして行なった。遊離糖粉末試料を約10%前後となるように蒸留水にとかし、pH 5.4に酢酸で調節したのち、あらかじめ作成しておいたカーボンカラム (片山化学活性炭とセライト545の等量混合物を内径5 cm、高さ40 cmのカラムに15 cm つめたもの) に加え、1夜放置後、蒸留水、5、

10、15、30% エタノール水溶液で自然溶出させ、溶出液は500 ml ずつ分割し、40°C以下でロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮し、約2~3 mlとしたものを濾紙にスポットしてペーパークロマトグラフィーを行なった。各溶出液中の糖の存在の有無は冷却状態でアンスロン法で検した。

(ii) セルロースカラムクロマトグラフィー

等しい重合度の糖の分割は上記カーボンカラムクロマトグラフィーでは不可能であるため、単糖類溶出区分について、川村ら⁸⁾の方法に準じ、セルロースカラムクロマトグラフィーをつぎのようにして行なった。

市販カラムクロマト用セルロース粉末を水飽和 *n*-ブタノールに浸し、内径2 cm、長さ20 cmのカラムにつめ、1夜放置後、試料溶液を乾燥セルロース粉末に吸収させ上部から加え、水飽和 *n*-ブタノール溶液で溶出した。溶出液は10 ml ずつ、フラクションコレクターで分取し、湯浴上ときどき水を加えながら *n*-ブタノールを蒸発除去し、定容としたのちアンスロン法で比色定量した。各ピーク部はピークごとに集め減圧濃縮乾固し、無水メタノールで抽出後抽出液を再び減圧濃縮乾固して、粉末とした。この一部を用いてペーパークロマトグラフィーを行ない、糖の種類を調べた。

(3) 誘導体の調整および確認

常法⁹⁾どおり、無水酢酸と酢酸ナトリウムによるアセチル化および、フェニルヒドラジン塩酸塩によるオサゾン誘導体を調整し、得られた結晶の融点は柳本製微量融点測定装置により、また赤外吸収スペクトルは日本分光製 IR-S 型赤外分光器により、臭化カリウム錠剤法で行なった。

実験結果および考察

第1図で得た遊離糖を前記3種の溶剤を用いてペー

第2図 クリ遊離糖の溶解度による分割

第1表 クリ遊離糖分割各区のペーパークロマトグラム R_f 値
記号 (イ) Anilin hydrogen phthalate (ロ) Phloroglucinol-HCl

糖	発色剤	n-BuOH: EtOH: H ₂ O					n-BuOH: AcOH: H ₂ O					n-BuOH: Pyr.: H ₂ O				
		標品	P	F ₁	F ₂	F ₃	標品	P	F ₁	F ₂	F ₃	標品	P	F ₁	F ₂	F ₃
ラフィノース	ロ	0.05	++	+			0.07	+	+			0.28	++	+		
マルトース	イ	0.13		+			0.14		+			0.39		+		
シュクロース	ロ	0.23	+++	+++	+++	+++	0.25	+++	+++	+++	+++	0.48	+++	+++	+++	+++
ガラクトース	イ	0.39					0.41					0.44				
グルコース	イ	0.48		+	?		0.46		+	?		0.53		+		
フラクトース	ロ	0.62		+	?		0.65		+			0.57		+	?	
キシロース	イ	0.62					0.66					0.49				

ペーパークロマトグラフィーを行なったところ、スポットした試料量の少ないときはシュクロースに相当するスポットしか表われないが、過剰 (約 200 μ g 程度) に用いると、シュクロースのほか、フロログルシンで発色するスポット 1 コと、アニリンフタル酸で発色するスポットが 2 コが現われた。そこで未知糖を分割する目的で第 2 図に示すような溶解度の差を利用した分別を試みた。

P, F₁, F₂, F₃ の 4 区に分割し、各区の収率は 90% であった。このうち P 区がもっとも吸湿性に富み、ついで F₁ 区もかなり吸湿性を示したが、F₂, F₃ 区はほとんど吸湿性が見られなかった。分割各区を 3 種の溶媒を用いてペーパークロマトグラフィーを行なった結果を第 1 表に示した。表に記した標品の R_f 値は 1 例であって、多重展開 (3 回) を行なう場合は必ず同時に標品を置く必要がある。

P 区では各溶媒とも、ラフィノーズ、シュクロースに一致する 2 コのスポットのみが検出され、F₁ 区ではラフィノーズ、マルトース、シュクロース、グルコース、フラクトースに相当する 5 コのスポット、F₂ 区ではシュクロースがほとんどでグルコース、フラクトースのスポットがわずかに見られるようであったが、過剰の試料を用いても明確に現われないことから存在するとしても量的にきわめて微量と考えられる。F₃ 区ではシュクロースしか表には表わさなかったが、*n*-ブタノール:ピリジン:水の溶媒で、原点をほとんど移行しないケトース反応陽性スポットと R_f 0.05 付近にアンモニア性硝酸銀で発色するスポットが見られた。

i) シュクロースの確認

F₂ 区に 1.00 g に無水酢酸ナトリウム 500 mg, 無水酢酸 7 ml を加え、逆流冷却管をつけ、油浴中 120°~125°C 30 分反応させ、反応物を約 500 ml の水水中に攪拌しながら投入した。生じた白色沈殿物および油状物質は

クロロホルム抽出、重炭酸ナトリウム洗浄、水洗い、脱水後蒸発乾固させ、希エタノール中で再結した。結晶は長さ 1 cm にも達する針状で、このものの融点は 93.5°C を示し、別に特級シュクロースから調製したオクタアセチルシュクロースの融点と一致し、混融による融点変化も見られなかった。またこのアセテートの赤外吸収スペクトルは第 3 図に示すとおりで標品と完全に一致した。

ii) グルコース、フラクトースの確認

F₁ 区に見られる単糖類を 2 糖類と分別する目的でカーボンカラムクロマトグラフィーを行なった。すなわち前述のカーボンカラムに F₁ 白色粉末 1.5 g を水 15 ml に溶かしたものを加え、蒸留水で溶出した。最初の水溶出 1.5 l を減圧濃縮しペーパークロマトグラフィーを行なうと、グルコースおよびフラクトースに相当するスポット 2 コが現われた。この溶液をシラップ状にまで減圧濃縮し、セルロース粉末を加えて吸着させ、セルロースカラムにつめてクロマトグラフィーを行なった。溶出液をアンスロン試薬で検し、2 コのピークの存在することを確かめ、減圧濃縮後各ピーク部分のペーパークロマトグラフィーを行なったところ、それぞれフラクトース、グルコースの単一なスポットが得られた。両画分はさらにエタノールを加え減圧濃縮し、乾固状態にまでなったときデシケーター中、五酸化リンの存在下で乾燥した。フラクトース、グルコース画分はそれぞれ、約 20 mg, 130 mg の白色粉末として得られた。フラクトース画分はフロログルシン塩酸反応陽性で、前述の 3 種の溶媒による展開で R_f がフラクトースと一致することからフラクトースと確認した。なお、この 10 mg を用いて無水酢酸ナトリウム、無水酢酸によるアセチル化を試みたが結晶化させることに成功しなかった。そこで残りの白色粉末を用いてフェニールヒドラジン塩酸塩によるオサゾ

第3図 アセテート誘導体の赤外吸収スペクトル：シュクロース区

第4図 オサゾン誘導体の赤外吸収スペクトル

第5図 アセテート誘導体の赤外吸収スペクトル：グルコース区

ンを作り、間接的ではあるが、得られた結晶の融点、および、赤外吸収スペクトルからグルコサゾンと同一物であることを確認した。すなわち融点 208°C を示し、同一条件下で特級グルコースから調整したグルコサゾンと一致し、赤外吸収スペクトルは第4図に示すように両者完全に一致した。

いっぽうグルコース画分については得られた白色粉末 100 mg を用いてアセチル化を行ない、希エタノールから再結して白色針状結晶 (融点 135°C) を得、別に特級グルコースから作った β -pentaacetyl-D-glucose の融点と一致し、赤外吸収スペクトルは第5図に示したように完全に一致した。したがってペーパークロマトグラム R_f 、アセテートの融点、赤外吸収スペクトルからこのものがグルコースであることを確認した。

iii) ラフィノーズの確認

P 区にはペーパークロマトグラム上、シュクロース、ラフィノースに一致する2コのスポートが現われたので(第1表) P 区 100 mg を 0.5 ml 熱水に溶かしたものを東洋汙紙 No. 50 (40×40) の下部から 5 cm のところにバンド状につけ n -ブタノール：ピリジン：水=6：4：3 で展開した。展開風乾後両端を縦にバンド状に切り、クロログルシン・塩酸で発色させて、スポートの位置を確認したのち R_f の小さいほうのスポート部分を切りとり、細切りして、熱水 20 ml ずつ2回抽出した。この抽出液を減圧濃縮して、約 0.5 ml とし、北原¹⁰⁾の方法に基いて塩酸で加水分解して、生成糖をペーパークロマトグラフィーで検出した。すなわち上記濃縮液 0.5 ml のうち 0.2 ml 取って、0.2 N-塩酸 0.2 ml 加えたものを内径 0.5 cm のガラス管内に封入し、沸騰浴中で加水分解した。別に標品ラフィノース 100 mg を 0.1 N-塩酸 1.0 ml で同様に加水分解したものと比較した。結果は第2表に示すように標品ラフィノースからの生成物と一致した。

第2表 ラフィノース区と標品の加水分解生成糖展開剤

Rf	糖 加熱(分)	ラフィノース区			標品ラフィノース			ガラクトース	グルコース	フラクトース
		0	30	60	0	30	60			
0.30		++			++					
0.35			+	+		+	+			
0.49				+			+	++		
0.55				+			+		++	
0.63			+	+		+	+			++

n-ブタノール：ピリジン：水=6：4：3 上昇法3回

第3表 カーボンカラムによる糖の分離

糖	溶出液 分割No.	水									5%		10%		30%	
		1~2	3~5	6~7	8	9~11	12~14	15~18	19~21	21~25						
○	0~0.05	?												±	+	
	0.10	?										+		+		
○	0.27	ラフィノース								±		++		+		
	0.36	マルトース						+		+						
○	0.44	シュクロース		++	+++	+++		+++		++		+				
	0.49	グルコース	++	+	±											
○	0.54	フラクトース	+	±												

○印：フロログルシン塩酸で発色するスポット
 その他はアニリンフタル酸発色スポット

標品としてメリビオーズを入手できなかったので Rf 0.35 のものは確認していないが、標品からも生成していることからメリビオーズと考えられる。なお分解物のペーパークロマトではまずアニリンフタル酸を噴霧後 100°C 5 分発色させ、その後フロログルシン・塩酸で発色させた。この条件では前者でケトースはほとんど発色しなかった。

iv) その他の遊離糖

第1図の操作によって、さらに遊離糖粉末を作成し、前述のカーボンカラムクロマトグラフィーによって、分割し各溶出区分の糖をペーパークロマトグラフィーによって検出した。試料の糖粉末は1g用い、展開はn-ブタノール：ピリジン：水=6：4：3の溶剤で行なった。結果は第3表に示すとおり、グルコース、フルクトース、シュクロース、ラフィノースのほか5%エタノール溶出区にマルトース、10%および30%エタノール溶出区に Rf 0.10 のスポットが見られこのスポットはアニリンヒドロゲンフタレートでわずかに、硝酸銀で強く発色した。30%エタノール溶出区にはフロログルシン-塩酸で発色しアニリンヒドロゲンフタレートでは発色しな

い、原点からほとんど動かないスポットが検出できた。しかし量的に非常に少なく、どのような糖であるか検討するまでには至っていない。

溶解度の差に基づき分割、カーボンカラムによる分割の両者とも、各フラクションには7種類の糖が検出できた。

要 約

クリ果の遊離糖として徒来知られている、シュクロース、グルコースのほか、ラフィノース、フルクトースを確認し、さらにマルトースをペーパークロマトグラフィーによって検出した。

そのほか、分別区からペーパークロマトグラムで原点をほとんど移動しないケトース反応陽性の糖および、ラフィノースより Rf の小さいスポット1コを検出した。

文 献

- 1) 松井 修・村田 侃：園芸，19，161(1950)。
- 2) 岩田久敏：糧食研究，169，12 (1940)。
- 3) 岩田久敏：農産食品加工研究会誌，6，87 (1942)。
- 4) 岩田久敏：綜合食品化学，(養賢堂)，p. 286(1948)

-
- 5) 奈良省三・山崎昌良：農化，**35**，490 (1961).
6) 京大農化編：農芸化学 実験書，(産業図書)，**2**，
p. 694 (1957).
7) 麻生 清・柴崎一雄：農化，**29**，856 (1955).
8) 川村信一郎・榎崎丁市：農化，**33**，817 (1959).
9) 阿武喜美子・瀬野信子：実験化学講座，(丸善)，
23，p. 400 (1957).
10) 北原増雄・竹内良光・石田欽一・竹本正弘：岐阜
大農，**11**，133 (1959).
(1966 年 6 月 11 日受理)
-