種の異なるヤマノイモ粘質多糖の化学的 性質と粘性挙動†

田之上 隼 雄*・下 蘭 英 俊*

Chemical and Rheological Properties of Viscous Polysaccharides from Three Species of Yam (*Dioscorea*)

Hayao TANOUE* and Hidetoshi SIMOZONO*

* Kagoshima Prefectural Agricultural Experimental Station,
5500, Kamifukumoto-cho, Kagoshima-shi 891-01

Viscous Polysaccharides were extracted from three species of Yam, Jinenjo (*Dioscorea japonica* THUNB.), Tsukune-imo (*D. opposita* THUNB.), and KaU-09 (*D. alata* L.) which was introduced from South-East Asian district. These yam viscous polysaccharides (Y.V.P.) were finally purified through ion-exchange resins after treatment with SDS-EtOH five times to remove proteinic and phosphorous impurities. Chemical and rheological properties of Y.V.P. were comparatively estimated and the following results were obtained. (1) Carbohydrate contents in the acid-hydrolysates were analysed to be 53~55%, and 90% of the resulting reducing sugars was mannose. The rest of sugars consisted of small amounts of arabinose, glucose and galactose, and a trace of xylose and rhamnose was also detected. Acetyl group was found to be about 2 moles per one sugar residue. There were little or no difference in sugar components among these three species of yam. (2) Protein contents of these Y.V.P. ranged from 2.0% to 2.2% and their amino acid compositions were almost similar to each other. The major amino acids were Asp., Glu., Ala., Ser. and Gly. (3) Viscosity of the Y.V.P. solutions which were treated with SDS and EtOH was almost similar to each other. Viscosity of the Y.V.P. solution increased remarkably after treatment through ion-exchange resins, and the increase was largest for KaU-09. Viscosity of finally purified Y.V.P. solution from KaU-09 was highest in water but lowest in 0.1M NaCl. Change of reduced viscosity against concentration in the purified Y.V.P. solution was larger in case of Jinenjo and Tsukune-imo than KaU-09, suggesting that interaction between Y.V.P. molecules was more strong in Jinenjo and Tsukune-imo than in KaU-09. These results show that rheological behavior of finally purified Y.V.P. from three species of yam was not equal.

(Received Jan. 8, 1990)

ヤマノイモの独特の「粘り」は品質を評価する上で極めて重要な要素であり、粘りの主体は、一般的に多糖-蛋白質複合体と言われている。著者らは前報¹⁾において、ゲル濾過法による粘質多糖の定量法を検討し、*Dioscorea alata* L., *D. opposita* THUNB., *D. japonica*

THUNB. に属する 13 種類のヤマノイモの粘質多糖含量と「とろろ」の糸ひきの性質に高い相関のあることを報告した。

しかし、永島²⁾は、ヤマノイモの粘質多糖の構成が品種によって異なることを報告している。各種ヤマノイモ

† ヤマノイモの利用に関する研究 (第 2 報) (前報 1))

* 鹿児島県農産物加工研究指導センター (〒891-01 鹿児島市上福元町 5500)

の粘質多糖の化学的性質、粘性挙動がそれぞれ異なるものであれば、粘質多糖含量の測定値は、そのことを考慮した上で評価しなければならないことになる。

現在、加工原料として *D. alata* L. の一系統の KaU-09, *D. opposita* THUNB. のつくねいも, *D. japonica* THUNB. のじねんじょが用いられ、産業上重要であるので、この三種から、粘質多糖を抽出、精製し、その化学的性質と粘性について比較検討した。

実 験 方 法

1. 実験材料

じねんじょは自生で、掘りとり後 3 日経過したものをを用いた。つくねいもは市場出荷品を入手した。KaU-09 は 12 月 14 日に収穫し、供試するまで 15°C で保管した。黒皮を除去したヤマノイモは、変色を抑制するため、SO₂ として 200 ppm を含む重亜硫酸ソーダ液中に 2 時間浸漬した後、ステンレス製卸し金で搾り卸して実験に供した。

2. 粘質多糖の精製

前報¹⁾の方法に従った。すなわち、とろろに等量の水を加え、攪拌して均一にした後 5000 rpm で 30 分間遠心分離した。上澄液について、SDS とエタノールによる除蛋白質、沈殿を 5 回繰り返した後、Amberlite 1 R-120 (H⁺), DOWX 1×4 (OH⁻) で処理し、精製粘質多糖標品とした。

各精製段階における粘質多糖の粘度測定には透析した後の水溶液を、また化学分析には、この水溶液を凍結乾燥した後、五酸化燐上で 40°C、12 時間減圧乾燥したものをを用いた。これらの試料については、とろろの水抽出液を P₀, SDS-エタノール処理回数に応じて P₁~P₅, 最終精製段階のイオン交換処理画分を P₆ とした。

3. 化学組成

粘質多糖 (以下 Y.V.P. = Yam viscous polysaccharide と記す) の糖組成、蛋白質およびリン含量は、前報¹⁾の方法に準じた。すなわち、糖は Alditol acetate にしてガスクロマトグラフィーで分別定量し、蛋白質はケルダール法、リンは硝酸-過塩素酸分解後、中村の方法によって求めた。

アミノ酸組成は、Y.V.P. 10 mg に 6 N 塩酸 5 ml を加え、脱気、窒素置換後封管し、110°C、24 時間加水分解して、アミノ酸分析計 (柴田 AA-1000) で分析した。

灰分は 600°C で灰化して求めた³⁾。

Y.V.P. 中のアセチル基は McComb ら⁴⁾の方法には

ば準じて求めた。凍結乾燥した Y.V.P. は水に溶けにくいいため以下の操作を行った。Y.V.P. の 20 mg に水 10 ml を加え、パラフィルムで封をして 5°C、48 時間放置して充分膨潤させた後、ガラス製ホモジナイザーで均一な懸濁液とし、その 2 ml に 7.5% (w/v) hydroxylamine hydrochloride 1 ml と、18.8% NaOH 1 ml を加えて透明になるまで攪拌して供試した。

4. 粘度測定

各精製段階の粘質多糖 (P₁~P₆) 水溶液をアルミカップにとり、60°C で乾固させた後さらに減圧乾燥 (60°C) して固形物含量を求めた。粘度測定用試料は、各精製段階の粘質多糖水溶液中の固形物含量をもとにして、0.001~0.02 (g/100 cc) に希釈し、ガラスフィルター (G 2) で加圧濾過して調製した。粘度測定にはキャノン-フェンスケ粘度計 (水の流下時間 345 秒) を用い、25°C で実施した。

5. ゲル濾過

前報¹⁾で報告したように、Toyopearl HW-65, HW-75, HW-40 を充填したカラムを連結して用いた。

結 果

1. 精製に伴う粘質多糖の化学的性質および粘性の変化

Table 1 に三種のヤマノイモ粘質多糖の精製に伴う成分変化を示した。いずれも SDS 処理により次第に蛋白質が減少し、精製粘質多糖 P₆ で糖/蛋白質比がほぼ一定となった。

精製過程におけるゲル濾過パターンの変化については、KaU-09 の例を Fig. 1 に示した。粘質多糖 P'₀ は P₀ を流水に対して透析したもので、フラクション 50 以降に溶出する成分は殆んど消失し、フラクション 17~28 の糖-蛋白質 (F₁) と 42~50 の蛋白質ピーク (F₂) が認められた。SDS-エタノール処理した P₂, P₅ においては、F₂ が除去されるとともに、F₁ 部の 210 nm 吸収が減少した。精製粘質多糖 P₆ で、糖/蛋白質比が一定になったことと関連して、F₁ に溶出する蛋白質の一部も不純物で、SDS-エタノール処理 5 回によりほぼ除去されたと考えられる。

リン含量は精製が進むにつれ高くなるが、イオン交換処理によって大部分が除去された。この中で、イオン交換処理前におけるリン含量は、KaU-09 が最も高く、じねんじょ、つくねいもとは異なる特徴を示した。

灰分も同様にイオン交換処理で除去された。灰化後、灰分を塩酸に溶かし、イオンクロマト (島津 HIC-6 A)

Table 1 Changes in the concentration of components of Y.V.P. during purification

Species	Purification stage	Sugar (%)	Protein (%)	Sugar/Protein	P (%)	Ash (%)
KaU-09	P ₀	29.0	38.8	0.75	0.60	6.5
	P ₂	39.1	18.0	2.17	1.50	16.4
	P ₄	44.2	2.3	18.47	1.57	10.6
	P ₅	47.6	2.3	20.69	2.33	9.8
	P ₆	49.6	2.0	24.80	0.10	2.2
Jinenjo	P ₀	14.5	62.3	0.23	0.67	18.6
	P ₂	40.9	12.9	3.17	1.82	14.6
	P ₄	41.2	6.3	6.54	1.16	15.4
	P ₅	51.6	2.3	22.05	1.02	15.1
	P ₆	52.6	2.2	23.80	0.17	4.1
Tsukuneimo	P ₀	12.8	71.0	0.18	0.58	3.0
	P ₂	43.8	14.3	3.06	1.91	17.7
	P ₄	46.6	5.4	8.63	2.22	15.0
	P ₅	46.7	1.9	24.32	1.19	13.9
	P ₆	50.6	2.0	25.45	0.24	3.0

Sugar : Determined by phenol-H₂SO₄ method

Fig. 1 Changes in gel-permeation column chromatographic patterns of Y.V.P. during purification

Column : Toyopearl HW-65 (2.5 cm ϕ $\times$ 50 cm)-HW 75 (2.6 cm ϕ $\times$ 65 cm)-HW 40 (2.6 cm ϕ $\times$ 65 cm)

Eluent : 0.4 M NaCl

Fraction size : 10 ml/ tube after elution of 200 ml

●..... Carbohydrate (Phenol-H₂SO₄, A₄₉₀ nm)○..... Protein (A₂₁₀ nm)

で求めたイオン量を Table 2 に示した。精製粘質多糖 P₅では、Ca²⁺が主であり、K⁺を多く含むとする池尾⁵⁾の結果と異なった。

各精製段階における粘質多糖の相対粘度を Fig. 2 に

示した。各試料の粘性挙動は溶媒が水の場合と 0.1 M NaCl では著しく異なり、ヤマノイモの粘質多糖が電解質であることを示している。水の場合、精製が進むにつれ粘度は上昇し、特に P₅から P₆の過程での変化が著

Table 2 Inorganic-cation content of the Y.V.P. before and after purification by ion-exchange resin

Cation	P ₅	P ₆
Ca ⁺⁺	5.30	0.18
Mg ⁺⁺	1.40	0.03
Na ⁺	1.71	0.63
K ⁺	0.15	0.08

Sample: KaU-09

Fig. 2 Change in relative viscosity of Y.V.P. solution (0.01 g/100ml) during purification

Solvent: ○····○ Water, ●····● 0.1 M NaCl, ○—○ 0.1 M Phosphate buffer (pH 7.0)

しかった。

一方、0.1 M NaCl 中では P₄~P₅ ではほぼ一定になり、P₆ で減少に転じた。精製過程におけるこれらの変化は、KaU-09 が最も大きく、じねんじょとつくねいもはほぼ類似した挙動を示した。以上のことは、電解質としての性質が、KaU-09 とじねんじょ、つくねいもでは若干異なることを示唆している。

2. 精製粘質多糖の化学組成

精製粘質多糖 (P₆) の加水分解液を中和後、ソモジー法により、構成糖含量を Mannose として求めたところ、加水分解液の還元値がほぼ最高となる 7 時間で、53~55% となった。その場合の糖組成を Table 3 に示した。三種とも Man. が主成分であり、約 90% を占めた。Man. 以外の糖成分としては、Arabinose が 1.6~2.2%, Glucose 1.4~1.7%, Galactose 0.9~1.1%

であった。また微量ではあるが、Xylose, Rhamnose の存在も確認された。

ヤマノイモ粘質多糖の糖組成について、佐藤⁶⁾は、SDS-エタノール処理で精製したいちょういもに Man. を、また三崎⁷⁾はつくねいもから銅コンプレックスとして単離した Mannan に Man. と Glc. を、さらに S. SEFA-DEDEH ら⁸⁾はペントサンの調製法に基づいて分離した *D. alata* L. の Water soluble nonstarchy polysaccharide に Man., Gal., Xyl., Ara. の存在を報告している。著者らが供試したヤマノイモは、種を異にするもののほぼ類似した糖組成をもつことがわかった。

ヤマノイモの粘質多糖には、アセチル基の存在が確認されている⁹⁾。エステル化度によって粘質多糖の物性が異なることも充分考えられることであり、その含量を求め、Table 4 に示した。KaU-09 のアセチル基の含量が他の二種に比べわずかに低かったが、糖残基 1 モル

Table 3 Sugar composition of the finally purified Y.V.P. (P₆)

Sugar	KaU-09	Jinenjo	Tsukune-imo
Man	48.27	51.29	49.68
Ara	2.42	1.60	2.22
Glc	1.46	1.55	1.74
Gal	1.09	1.06	0.91
Xyl	0.15	0.09	0.13
Total ^{*1)}	53.23	55.65	54.86
Sugar content (%) ^{*2)}	53.6	55.1	55.6

*1) Reducing sugars were acetylated and analyzed by GLC (condition: 3% ECNSS-M on Gas Chrom Q, 190°C)

*2) Determined as mannose by Somogyi-Nelson method

Table 4 Acetyl content of the purified Y.V.P. (P₆)

Species	Acetyl content (%)
KaU-09	24.8
Jinenjo	26.9
Tsukune-imo	27.4

Table 5 Amino acid composition of the purified Y.V.P.

Amino acid	KaU-09	Jinenjo	Tsukune-imo
Asp	1.30 (11.6)	1.15 (11.8)	1.35 (15.0)
Thr	0.70 (6.2)	0.65 (6.7)	0.45 (5.0)
Ser	1.20 (10.7)	0.74 (7.6)	0.90 (10.0)
Glu	1.30 (11.6)	1.22 (12.6)	1.35 (15.0)
Gly	1.20 (10.7)	0.95 (9.8)	0.45 (5.0)
Ala	1.40 (12.5)	1.22 (12.6)	0.90 (10.0)
Val	0.70 (6.2)	0.62 (6.4)	0.49 (5.4)
Ile	0.50 (4.4)	0.53 (5.4)	0.45 (5.0)
Leu	0.70 (6.2)	0.71 (7.3)	0.60 (6.6)
Tyr	0.70 (6.2)	0.30 (3.1)	0.58 (6.4)
Phe	0.50 (4.4)	0.53 (5.4)	0.41 (4.5)
His	+	0.11 (1.1)	0.12 (1.3)
Lys	0.50 (4.4)	0.47 (4.8)	0.45 (5.0)
Arg	0.50 (4.4)	0.49 (5.0)	0.49 (5.4)
Cys. a	0.001	0.001	0.001
Total ($\mu\text{mol}/100\text{ mg}$)	11.2 (100)	9.69 (100)	8.99 (100)

Fig. 3 Relative viscosity of the purified Y.V.P.

Solvent: ○—○ Water, ●—● 0.1 M NaCl

当たりのアセチル基はいずれも2モルに相当した。

アミノ酸組成は Table 5 に示した。三種のヤマノイモとも、モノアミノジカルボン酸であるグルタミン酸、アスパラギン酸が主体であった。グルタミン酸、アスパラギン酸が多いのは、ながいも¹⁰⁾、つくねいも⁷⁾と一致するが、いちょういもではグルタミン酸が少ないとする佐藤⁹⁾の結果と異なった。その他グリシン、アラニンも多く含まれた。トリプトファンについては、6 N Ba(OH)₂加水分解液で検討したが、三種ともその存在を

確認できなかった。シスチンについては、粘質多糖を過ギ酸で処理した後6 N 塩酸で加水分解した液中に、シスチン酸に相当するピークが検知されたが、その含量は三種とも微量で、0.001 $\mu\text{mol}/100\text{ mg}$ と算出された。

3. 精製粘質多糖の粘度

精製粘質多糖 (P₀) の濃度と相対粘度との関係を Fig. 3 に示した。溶媒が水の場合 KaU-09 の粘度が高く、0.1 M NaCl 中では逆にじねんじょ、つくねいもの粘度の低いことがわかった。三種の粘質多糖のゲル濾過による溶出位置はほぼ一致することから、分子量に大きな違いがあるとは考えにくく、電解質としての性質が異なることによる相違であろうと推測される。

濃度と還元粘度との関係を Fig. 4 に示した。0.1 M NaCl 中での濃度-還元粘度曲線から、じねんじょ、つくねいもの粘質多糖において分子間相互作用の強いことが推定できる。

4. 考 察

ヤマノイモの種類によって、その粘質多糖の性質が異なるものであれば、ヤマノイモを搾り卸した「とろろ」の物性も粘質多糖の含量のみで説明できなくなる。しかるにこれまでの粘質多糖の化学的性質についての報告では一致した結論は導かれず、むしろヤマノイモの種によってその性質が異なるとの見方ができるように思える。

Fig. 4 Reduced viscosity of the Y.V.P.

Solvent: ○—○ Water, ●—● 0.1 M NaCl

著者らは前報¹⁾において、13種類のヤマノイモの粘質多糖含量を求め、その値が「とろろ」の延伸性と高い相間にあることを報告した。このなかで、各種ヤマノイモ粘質多糖のゲル濾過による溶出位置はほぼ一致することから、少なくとも供試したヤマノイモの粘質多糖は類似するものであろうと推定した。今回はこのことを確認するため、種の異なる三種のヤマノイモについて、SDS-エタノールとイオン交換処理によって粘質多糖を精製し、化学的性質と粘性挙動を比較検討してみた。

これまでのヤマノイモ粘質多糖の化学組成についての報告から、アセチル化された Mannan を主鎖とし、それに蛋白質、リン化合物、無機成分が結合した構造をイメージできる。

まず主鎖部分についてみると、Mannose として 53～55% を含み、Mannose 1 モルあたりアセチル基が 2 モル結合した基本的構造が考えられる。構成糖は、Mannose が約 90% を占め、その他 Glc., Ara., Gal. さらには微量成分として Xyl., Rham. を含むが、これらの糖の含量は三種のヤマノイモで類似しており、骨格となる多糖部分に差はないと考えることができる。

蛋白質は 2～2.2% 含まれ、三種に共通してモノアミノジカルボン酸の Asp., Glu. が多く含まれた。その他のアミノ酸含量には種による若干の差があったが、蛋白部分の大まかな構造は類似すると判断される。

粘質多糖の主要骨格をなす多糖と蛋白部分には、ヤマノイモの種による大きな差はないとの見方ができることから、著者ら¹⁾が報告したように、ゲル濾過によって多糖成分を分離し、比色することによってヤマノイモ粘質多糖含量を求める方法は三種のヤマノイモに共通して応用し得るものと評価できる。

粘質多糖全体からみると少量であるが、無機成分として、リンと Ca^{2+} を多く含むことが確かめられた。

リンはフィチン酸として粘質多糖に結合していると報

告されている¹¹⁾。リン化合物はゲル濾過によって多糖成分と分離されて溶出し¹⁾、かつイオン交換処理で、灰分とともに大部分が除去されることから、イオンの結合して存在すると考えられる。

リンおよび無機成分が結合している粘質多糖 (P_5) の相対粘度は三種ともほぼ等しかった。「とろろ」中にあって粘質多糖はリン、無機成分と結合した状態であり、従って、「とろろ」の粘りに及ぼす影響が種によって異なることはない判断される。

P_5 よりイオン交換によって強制的に無機成分を除去すると粘性挙動に著しい変化をもたらした。すなわち、イオン交換処理された粘質多糖 (P_6) は水に溶かすと P_5 より相対粘度が急上昇し、0.1 M NaCl 中では逆に P_5 より低くなった。脱イオンされた粘質多糖は、水中ではイオンの反撥し合い、伸びた形態をとるので相対粘度が高くなり、一方、電解質を含む溶媒中ではイオン対を形成し、ランダムなコイル状になるため相対粘度が減少するのであろう。0.1 M NaCl 中で P_5 と P_6 の相対粘度が異なるのは、 P_5 のイオン対はフィチン酸であり、これを強制的に除去した P_6 を 0.1 M NaCl に溶かした時のイオン対は NaCl となり、イオン対の分子量に差があるためと考察される。このことは P_6 の相対粘度が 0.1 M NaCl とリン酸バッファー中で異なることから裏づけられる。

P_5 から P_6 への精製過程における以上の粘度変化は、KaU-09 が最も大きく、じねんじょ、つくねいもではこれより少なく、その変化量は等しかった。電解質としての性質がヤマノイモの種によって異なることを示唆している。

著者らは、理在ヤマノイモの凍結乾燥粉末の粘りについて検討しているが、凍結乾燥粉末の水戻りは KaU-09 が最も容易で、じねんじょ、つくねいもはや困難なことを確認している。これは、電解質としての性質の違い

に起因するのではないかと考えている。

要 約

Dioscorea alata L., *D. opposita* THUNB., *D. japonica* THUNB. に属する KaU-09, つくねいも, じねんじょについて, それぞれの水抽出液を SDS-エタノール処理とイオン交換処理して粘質多糖を精製し, ヤマノイモの種による粘質多糖の化学的性質と粘性挙動を比較検討した。

(1) 糖組成

精製粘質多糖 (P_0) の糖含量は Man. として 53~55 % で, 種による差は極めて少なかった。糖組成はいずれも Man. が主で, 約 90 % を占めた。その他の糖として Ara., Glc., Gal. が含まれ, 微量であるが Xyl., Rham. が検出された。三種の多糖ともアセチル化され, 糖残基一つにつき二つのアセチル基の存在が確認された。

(2) アミノ酸組成

精製粘質多糖中に蛋白質は 2.0~2.2 % 含まれた。構成アミノ酸は Asp., Glu. が最も多く, Ala., Ser., Gly. も比較的多量含まれた。構成アミノ酸の種類およびその含量ともにヤマノイモの種による差は認められなかった。

(3) 粘性挙動

SDS-エタノール処理のみで精製した粘質多糖 (P_5) の相対粘度にヤマノイモの種の違いによる影響は認められなかった。

P_5 をイオン交換処理した精製粘質多糖 (P_0) では, 粘性変化が著しく, この画分については, ヤマノイモの種による相違が確認された。すなわち, 溶媒が水の場合,

KaU-09 の相対粘度が高く, 0.1M NaCl では, つくねいも, じねんじょの方が高かった。濃度と還元粘度との関係から 0.1M NaCl 中での粘質多糖の分子間相互作用は, つくねいも, じねんじょが KaU-09 より高いと推測された。

終りに, 本稿を草するにあたり, 数々の御助言と御検閲を賜った鹿児島大学永浜伴紀教授に厚くお礼を申し上げます。

文 献

- 1) 田之上隼雄・穂原関夫・石畑清武: 食工誌, 35, 595 (1988).
- 2) 永島俊夫・浅利喬泰・鴨居郁三・小原哲二郎: 日本農芸化学会昭和 61 年度大会講演要旨集, p. 635, 北海道 (1986).
- 3) 日本食品工業学会食品分析法編集委員会編: 食品分析法 (光琳, 東京) p. 239 (1982).
- 4) McCOMB, E.A., McCREADY, R.M.: *Anal. Chem.*, 29, 819 (1957).
- 5) 池尾和子: 奈良学芸大, 12, 15 (1964).
- 6) 佐藤利夫・水口 純・鈴木周一・戸倉正利: 日化, 88, 216 (1967).
- 7) MISAKI, A., ITO, T., HARADA, T.: *Agr. Biol. Chem.*, 36, 761 (1972).
- 8) SEFA-DEDEH, S., RASPER, V.F.: *Cereal Chem.*, 54, 746 (1976).
- 9) 佐藤利夫: 日化, 88, 982 (1967).
- 10) 久武綾子: 生化学, 36, 821 (1964).
- 11) 佐藤利夫: 日化, 88, 985 (1967).

(平成 2 年 1 月 8 日受理)