琉球大学学術リポジトリ

バガスアルカリ可溶性画分の糖含量と糖組成

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): バガス, アルカリ可溶性物, 食物繊維, リグニン, キシロース キーワード (En): bagasse, alkali soluble extract, dietary fiber, lignin, xylose 作成者: ?, ?曼, 石丸, 哲二, 玉城, 一, 屋, 宏典, 知念, 功, Sun, Liman, Ishimaru, Tetsuji, Tamaki, Hajime, Oku, Hirosuke, Chinen, Isao メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/3608

バガスアルカリ可溶性画分の糖含量と糖組成

孫丽曼*・石丸哲二**・玉城　一***・屋宏典****知念　功***

Liman SUN*, Tetsuji ISHIMARU**, Hajime TAMAKI***, Hirosuke OKU**** and Isao CHINEN***

Sugar content and component of bagasse alkaline soluble extracts

キーワード：バガス，アルカリ可溶性物，食物繊維，リグニン，キシロース

Key words : bagasse, alkali soluble extract, dietary fiber, lignin, xylose

Summary

Bagasse alkaline extract by 7% sodium hydroxide solution was separated to Fraction 1 obtained by centrifuging precipitate from adjustment to pH 4.5 with acetic acid and Fraction 2 obtained by centrifuging precipitate from addition of alcohol (1:1v/v) to the supernatant. Sugar content and components of Fraction 1 and 2 were investigated by paper chromatography and thin layer chromatography after hydrolysis of the alkaline extracts. Sugar content of Fraction 2 was higher than one of Fraction 1. Main components of Fraction 2 were xylose, arabinose, and glucose. Fraction 1 mainly contained xylose at ratio of 96.4%. Factions 1 and 2 were found to contain xylose also by thin layer chromatography. Fractions 1and 2 were realized to contain absorption spectrums of OH and CH radicals, and those of ester and ether bonds by infrared spectrum. Infrared absorption spectrums of Fractions 1 and 2 were different but those of hydrates from Fractions 1 and 2 were same. β-Bond absorption showing sugar bond form and urtraviolet absorption of 280nm were found from Fractions 1 and 2 Fractions 1 and 2 were estimated to include structure of bonding sugars to lignin. Negative ninhydrin reaction of Fractions 1and 2 showed absence of amino acids or protein. Fractions 1 and 2 did not bind with bile acids as sodium cholate, sodium deoxycholate and taurochlate. Lignin contents of Fractions 1 and 2 were 10.1% and 1.6%, respectively.

緒　言

食物繊維は，人の消化酵素で分解されない食物中の成分をさすため，対象となる物も広く，種類も多い。食品の種類により，食物繊維の種類，性質，含有量が異なる[1-3]。

食物繊維は，細胞壁を構成するセルロース，ヘミセルロース，ペクチン質，リグニンから，非構造成分のペクチン質，ガム質粘物質などを含み，更に化学的に修飾された高分子化合物のカルボキシメチルセルロースなどもそれに含まれる[2)3)]。

一方，このような食物繊維が消化管を通過する際に次に述べるような特徴がある。1）消化管の動きを活発にする。2）便容積を増加させる。3）内容物の消化管通過時間を短縮させる。4）腸内圧および服圧を低下させる。5）食事成分の消化吸収を低下させる。6）腸肝循環する胆汁酸を吸着し，体外へ排泄させる。7）腸内細菌の種類およびその環境を変化させることなどが挙げられる[1-3]。

このような機能が有るために，逆に食物繊維が不足したり，欠乏したりすると，種々の疾病が生ずると考えられている。

生体への食物繊維の影響は食物繊維の性状によって異なる。すなわち，水溶性の食物繊維（Water-soluble dietary fiber, SDF）と非水溶性の食物繊維（Water-insoluble dietary fiber, IDF）で大きくことなり，機能効果に差異がある。高コレステロール血症改善効果はＳＤＦで，効果を発揮すると考えられている[1)]。

本研究では，製糖副産物であるバガスから，ＳＤＦを松尾[4)]らのヘミセルロースセルロース抽出法で抽出した。バガスをアルカリで処理し，次に，酢酸でpH4.5に調整し，沈殿する部分を遠心し，画分（画分１）を得た。次にその上清にアルコールを添加し，遠心し，沈殿画分（画分２）を得た。

次にその両画分について，ペーパークロマトグラフィーおよび薄層クロマトグラフィーで，糖組成をしらべた。ま

*鹿児島大学大学院連合農学研究科（琉球大学）・**大分県武蔵町立武蔵中学校
琉球大学農学部生物資源科学科・*琉球大学医学部遺伝子センター
琉球大学農学部学術報告　**50**：151～155(2003)

たその各画分の胆汁酸との結合能を調べ，さらにリグニン含量などについて研究し，食物繊維としての有用性について研究した。

実験方法

1. バガスアルカリ抽出物の調整法

実験材料として用いたバガスは経済連製糖工場で入手した。バガスはよく乾燥させた後，ウィリー粉砕器を用いて細粉し，蒸留水で洗浄後，8％水酸化ナトリウム水溶液に一晩浸積し，アルカリ抽出物を得た。抽出液は濾過後，濾液を酢酸でpH4.5に調整し，一夜放置した。5000×gで30分間遠心分離し，上清と沈殿物に分けた。まず，沈殿物は蒸留水で2回洗滌し，凍結乾燥して画分1を得た。次いで，上清み液は等容量のエタノールを加え，生成した沈殿物を遠心分離で集め，蒸留水：エタノール＝1：1で洗い，凍結乾燥して画分2を得た。

2. バガスアルカリ抽出物画分の分析

(1) ペーパークロマトグラフィーによる画分1と2の糖含量の分析

画分1と2を2N硫酸で2−3時間，酸加水分解して得られる溶液50μℓをペーパーにスポットし，n-ブタノール：ピリジン：水＝6：4：3（v/v/v）の溶媒系で15〜16時間展開し，糖を分離し，アニリンフタレート発色試薬で発色した。次に得られたスッポトを各々切り抜いて試験管に入れ，アニリンフタレート試薬0.5mlを加えて，90℃で1時間加熱した。次に濃塩酸4mlとアセトン100mlの混合液4mlを加え抽出した。時々振とうしながら1時間放置し，遠心分離後上澄みを得て，ヘキソースは390nmで，ペントースは360nmで吸光度を測定し，糖含量を求めた。

(2) ペーパークロマトグラフィーによる糖の分離定性

標準液3μℓ，画分1を100μℓ，画分2を150μℓペーパーにスポットし，展開溶媒n-ブタノール：ピリジン：水＝6：4：3（v/v/v）で15〜16時間展開した後，アニリンフタレート試薬で糖を発色させた。

(3) 薄層クロマトグラフィー（TLC）による糖の分離定性

糖標準溶液3μℓ，画分1および画分2を各々50μℓ薄層プレートにスッポトし，展開溶媒（酢酸エチル：イソプロパノール：水＝1：2：1）で展開し，アニリンフタレート試薬と硫酸：水＝1：1試薬で発色させた。また，異なる展開溶媒，すなわち，n-ブタノール：酢酸：水＝3：3：2(v/v/v)，n-ブタノール：アセトン：緩衝液*＝4：5：1(v/v/v)で展開した。なお，発色試薬は前者は硫酸を噴霧し，後者はアニリンフタル酸試薬で発色させ，糖成分をしらべた。

(4) 胆汁酸との結合能[5]

画分1，画分2を各々20mgをとり，2mMの胆汁酸（pH8の0.1Mリン酸緩衝液）を3ml加えた後，穏やかに撹拌し，37℃で2時間インキュベートした。12000 r.p.mで1時間遠心分離し，上澄みを100μℓとり，酵素法（Hydroxy-Steroid dehydrogenase）で胆汁酸量を求め，結合能を％で示した。

(5) リグニン含量[6]

ＪＩＳ法(klason法)により測定した。

(6) バガスアルカリ抽出画分の定性およびＩＲ解析

実験結果

バガスアルカリ抽出画分の分析

(1) ペーパークロマトグラフィーにより求めたバガスアルカリ可溶性画分1と2の糖含量と成分の分析

バガスアルカリ可溶性画分1と2を酸加水分解した後，ペーパークロマトグラフィーにより糖組成と糖含量を調べた。その結果をTable−1に示した。

画分2は，画分1よりも糖含量が高かった。次に画分1は，キシロース，アラビノース，グルコースが主要成分であったのに対し，画分1は殆どがキシロース（全体の96.4％を占めていた）であった。

(2) ペーパークロマトグラフィーによる五炭糖の存在確認

バガスアルカリ抽出画分を酸分解後，ペーパークロマトグラフィーで五炭糖の存在確認をおこなった（Fig.1)。画分1と2には，D(+)−キシロースとL-アラビノースが存在することがわかった。

(3) 薄層クロマトグラフィーによる画分1と2でのキシロースの存在確認

バガスアルカリ抽出画分1と2を2N硫酸で加水分解し，薄層クロマトグラフィーでキシロースの存在を確認した（Fig. 2)。

画分1と2は，ともにキシロースが存在することが確認された。

(4) 胆汁酸との結合能

画分1と2，コレスチラミン，セルロースおよびバガスと胆汁酸（コール酸ナトリウム，デオキシコール酸ナトリウム）との結合能をTable-2に示した。コレスチラミンは，胆汁酸と強い結合能を示した。ところが，画分1と2はこれらの胆汁酸と殆ど結合しなかった。しかし，バガスはわずかながら胆汁酸と結合した。

(5) リグニン含量

JIS法（Klason法）[6]により，リグニン含量を求めた結果，画分Ｉで19.1%，画分IIで1.6%リグニンが存在した。

(6) バガスアルカリ抽出画分の定性およびＩＲ解析

Table 1. Sugar composition (%) of Fractions 1 and 2.

	Xylose	Arabinose	glucose
Fraction 1	96.4	3.6	Tr
Fraction 2	73.2	19.5	7.3

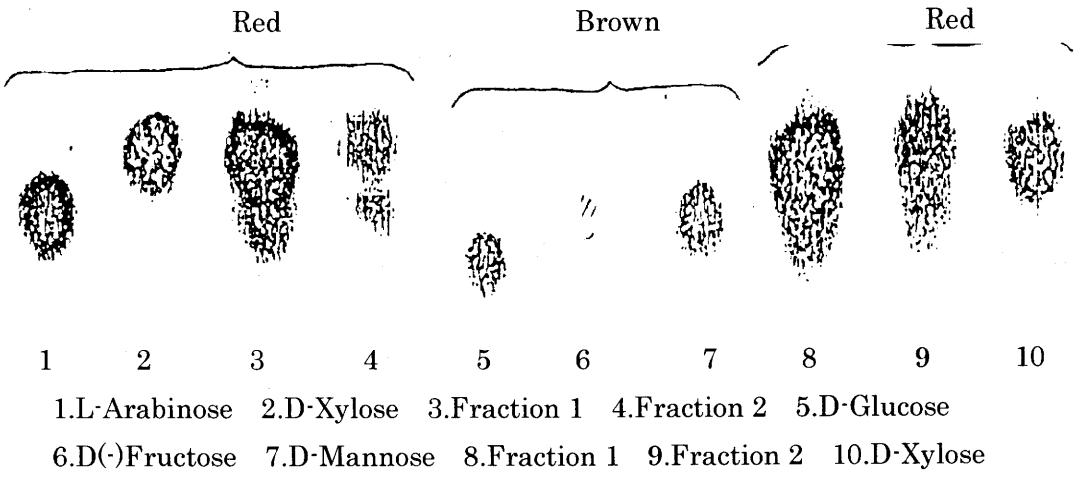

Fig.1 Sugar component analysis of Fractions 1 and 2 by paper chromatography.
Developing solvent;n-ButylAlcohol:Pyridine:Water=6:4:3=150:100:75ml.
1.L-Arabinose 2.D-Xylose 3.Fraction 1 4.Fraction 2 5.D-Glucose
6.D(-)Fructose 7.D-Mannose 8.Fraction 1 9.Fraction 2 10.D-Xylose

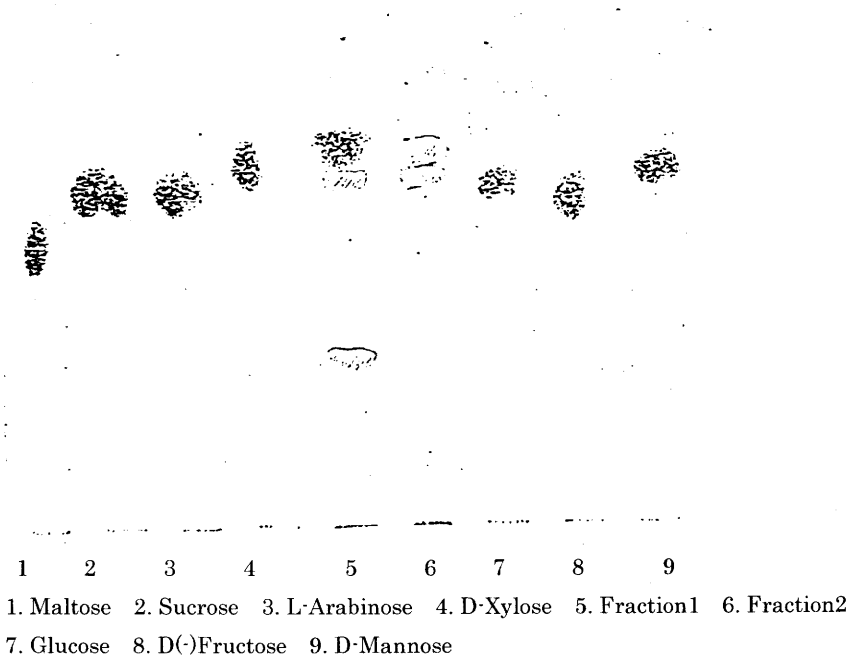

Fig.2 Sugar component analysis of Fraction1 and 2 by TLC.
Developing solvent;Ethyl Acetate:iso-propyl Alcohol:Water=1:2:1=25:50:25ml.
1. Maltose 2. Sucrose 3. L-Arabinose 4. D-Xylose 5. Fraction1 6. Fraction2
7. Glucose 8. D(-)Fructose 9. D-Mannose

1. 定性

バガスアルカリ抽出画分1と2は，Table-3に示す性質を有した。すなわち，画分1と2は，ともにニンヒドリン反応は示さず，フロログルシン反応を示し，さらに280nmの紫外吸収が確認された。

2. ＩＲ解析

バガスアルカリ抽出画分のＩＲ解析。

1) 画分1と2はともにＯＨ，ＣＨ基に特徴的な吸収がみられた。その他，ＣＯＯ-およびC-O-C結合の存在も示唆された。

Table 2. Binding of Fraction1 and 2 with bile acids

Materials	Bile acids absorbed (%)		
	Sodium cholate	Sodium deoxycholate	Taurochlate
Fraction 1	3.9±1.5	5.4±2.9	13.3±3.0
Fraction 2	−1.5±1.7	0.9±0.4	5.4±2.8
Bagasse	9.3±1.3	13.9±0.3	6.1±0.4
Sellulose	1.5±1.9	1.3±1.7	−0.1±0.5
Cholestyramine	77.0±0.6	100.2±0.7	82.3±0.5

Mean±SE of triplicate analyses

Table 3. Ninhydrine and phloroglucin reactions and ultraviolet absorption of Fractions1 and 2

	Fraction 1	Fraction 2
Ninhydrine reaction	−	−
Phloroglucin reaction	+	+
Ultraviolet absorption spectrum (280nm)	++	++

2) 画分2は，ベンゼン環の吸収も見られた。画分2の水解物残渣にも同様にベンゼン環の吸収がみられた。
3) 画分1と2はそれぞれ特徴的な赤外吸収パターンを示した。しかし，両画分の水解残渣の吸収パターンは一致した。
4) 糖鎖の結合様式はβ−結合であった。

考　察

バガスアルカリ抽出画分1と2を酸加水分解（$2NH_2SO_4$ in boiling water bath, 3〜4 hr)した後，ペーパークロマトグラフィーで，糖組成および糖含量を調べた。標準糖とRfを比較すると，両画分は，キシロース，アラビノース，グルコースを含むことがわかった。しかしながら，画分2は，画分1よりも糖含量が高く，キシロース，アラビノース，グルコースが主要糖であるのに対し，画分1は殆どがキシロース（全体の96.4%を占めていた）であった。さらに，分解生成物を薄層クロマトグラフィーで，糖組成を調べると，画分1と2にはキシロースの存在することがわかった。一方，両画分はニンヒドリンとは反応しないで，フロログリシンと反応し，280nmに吸収帯を有した。このことから画分1と2はタンパク質などは含まれていないが，リグニンを有することを示唆した。次に両画分の構造を赤外吸収(IR）によるスペクトルで解析した。画分1と2は，それぞれ特徴的な赤外吸収パターンを示していたが，酸加水分解後は一致してリグニンと類似の吸収パターンを示し，両画分にリグニン様な物質の存在を示唆した。また，280nmに吸収帯を有することからリグニン様な物質を含むことが確認された。

次に画分1と2コレスチラミン，セルロースおよびバガスと胆汁酸（コール酸ナトリウム，タウロコール酸ナトリウム）との結合能をin vitroで調べた結果，高コレステロール血症改善剤であるコレスチラミンは，いずれの胆汁酸とも強い結合能を示したが，画分1と2は，これらの胆汁酸と殆ど結合しなかった。バガスは，わずかながら胆汁酸と結合した。しかし，両画分は，リグニン含量を調べた結果，画分1で19.1%，画分2は1.6%リグニンが含まれていた。

このように，画分1および画分2はきわめて類似した糖組成を示したが，糖およびリグニン含量では，画分1は，画分2と著しく異なっていた。

要　約

バガスに7%苛性ソーダ液を加えて得られる抽出液に酢酸を加えpH4.5調製することにより得られる沈殿を遠心し，水で洗い，画分1を得た。その上澄みにアルコールを1:1で加えて得られる沈殿を遠心し，アルコールで洗浄し，画分2を得た。画分1と2を酸加水分解した後，ペーパークロマトグラフィーで，糖組成および糖含量を調べた。画分2は，画分1よりも糖含量が高く，キシロース，アラビノース，グルコースが主要な構成糖であった。画分1は殆どがキシロース（全体の96.4%を占めていた。)。薄層クロマトグラフィーでも，両画分にキシロースが存在することを示唆した。

さらに，両画分を赤外吸収（IR）スペクトルで解析した結果，画分1と2はともにOH，CH基に特徴的な吸収が見られた。さらにエステル結合およびエーテル結合の存在も示唆された。画分2の水解物残渣にベンゼン環の吸収が見られた。画分1と2は，特徴的な赤外吸収パターンを示したが，両者の水解残渣の吸収パターンは一致した。糖鎖の結合様式はβ−結合であった。280nmの紫外部領域に強い吸収を有した。

以上から，画分1と2はリグニン様物質に糖鎖が結合した構造を有すると推察されたが，両画分は糖含量，糖組成およびリグニン含量に差異は認められた。一方，ニンヒドリン反応が陰性を示したことから，アミノ酸やタンパク質等は存在しないと推察された。次に，画分1と2の胆汁酸（コール酸ナトリウム，デオキシコール酸ナトリウム，タウロコール酸ナトリウム）との結合能を調べた結果，これらは胆汁酸とは結合しないことがわかった。リグニン含量では，画分1は19.1%，画分2は1.6%存在した。

引用文献

1) 辻啓介(1985) 食物繊維の生理学 *食の科学* 94: 14-21

2) 水谷武夫(1985) 食物繊維の栄養学 *食の科学* 94: 23-30

3) 印南敏(1985) 食物繊維の特性とその働き *食の科学* 94: 31-36

4) Matsuo M, Yasui T, and Kobayasi T (1977) Purification and Some Properties of β-Xylosidase from *Malbrabhea pulchella var. sulfurea* No.48 *Agric. Biol. Chem.* 41 1593-1599

5) Story JA, and Kritchevsky D (1976) Comparison of the Binding of Various Biles Salts in vitro by Several Types of Fiber. *J. Nutr.* 106 1292

6) Kato A, Azuma J, and Koshijima T (1984) Lignin Carbohydrate Complexes and Phenolic Acid in Bagasse *Holzforschung* 38 141