

スイートコーン種実中の糖類に関する研究

(第1報) スイートコーン種実中の糖類の同定

建石 耕一・飯島 隆志*

信州大学農学部 食品化学研究室

緒 言

万豆¹⁾は青果としての収穫適期に収穫されたスイートコーンの収穫後の取扱いと品質保持に関する研究を行い、糖類の消長は貯蔵温度に大きく左右され低温貯蔵は品質保持のために有効であると述べている。又松下²⁾は種子の成熟過程における遊離糖含量の変化についての研究のうちの一つとしてトウモロコシについて調べているが、品種についての記載がないがおそらくデントコーンではないかと推測される。筆者らはスイートコーンの糖類に関する一連の研究の中で低温貯蔵と糖含量の変化、糖類の消長と呼吸との関係、成熟過程における糖類含量の変化、グリコーゲン含量の消長とその物理化学的性質の変化について報告する予定である。これら一連の研究の中でスイートコーン種実中の糖類を同定することは必要と思われる。スイートコーン種実中に含まれる遊離糖類及び多糖類について同定したのでその結果について報告する。

実 験

1 試 料

供試材料は信州大学農学部実験圃場で普通露地栽培されたゴールドクロspbantamで、受粉後20日の穂軸を収穫後直ちに実験に供した。

2 試料の調製法

1) 遊離糖類

受粉後20日の穂軸5個体を採取し、包皮を取り除いた後外觀上から熟度がほぼ同一と思われるもの3個体を選んだ。1穂軸についても部位(上, 中, 下)によっても熟度が異なるので3個体からそれぞれ縦に2列ずつ種実を採取しそれぞれの個体から平均的に合わせて20gを供試した。試料20g(水分含量約60%)に10倍のエタノールを加えて湯浴上で還流冷却管をつけ約2時間ずつ3回抽出し、これを濾過し(2, 3回抽出には80%エタノール溶液を使用した)抽出液を合せロータリーエバポレーターで減圧濃縮し、約1/5容にした。エタノールを除去した濃縮液に更に水を加え、10%中性酢酸鉛液を沈澱が生じなくなるまで滴下し、沈澱を遠心分離(又は濾過)し、上清液に充分H₂Sを通じて脱鉛した。沈澱物を除き更に

1985年4月30日受付

* 現飯田女子短期大学

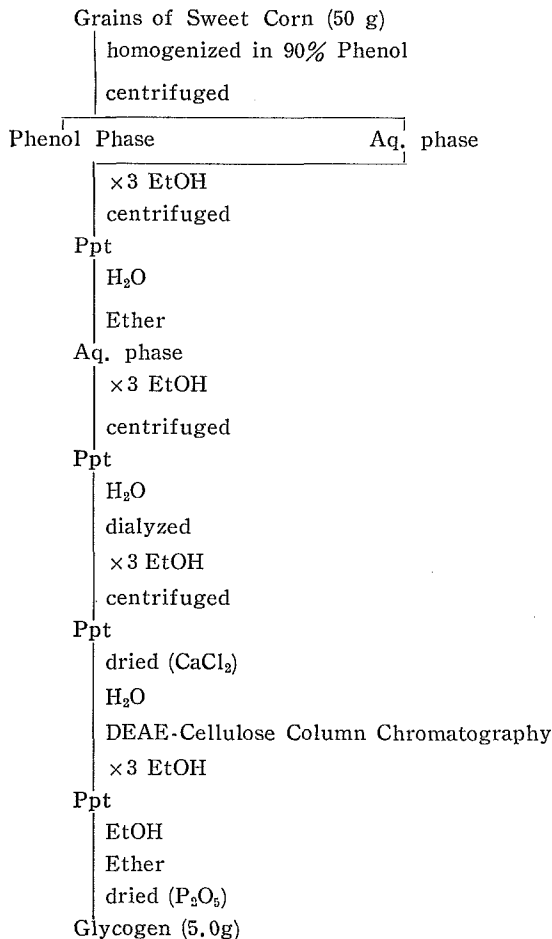


Fig.1. Preparation of Phytoglycogen from Sweet Corn Kernels. Samples of kernels at 20 days after silking.

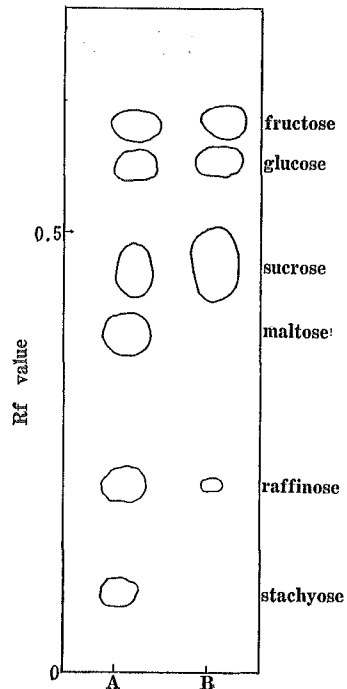


Fig.2. Paper Partition Chromatogram of Sugars.

Paper : Toyo filter paper No. 50
 Solvent system : n-butanol-pyridine-water (6 : 4 : 3)
 A : Mixed samples (fructose, glucose, sucrose, maltose, raffinose, stachyose)
 B : Sugars contained in sweet corn kernels

減圧濃縮し過剰の H₂S を除き、これに水を加えて 3 ml に定容したものを試料とした。

2) 多糖類

1) に述べた遊離糖抽出残渣から調製することも可能であるが、最も温和な条件で調製するために図 1 に示したフェノール抽出法³⁾ によった。摩砕後 45% フェノール抽出、エタノール沈澱を数回くりかえし透析後、DEAE-cellulose カラムクロマトグラフィーによって精製した。澱粉は図 1 に示したフェノール層の沈澱部から常法⁴⁾ によって調製した。

3 遊離糖の検索

PPC 及びイオン交換クロマトグラフィーによって行った。

1) 濾紙 : 東洋濾紙 No. 50 (40×40cm) を用いた。

- 2) 展開溶媒：(a) n-butanol : acetic acid : water (4 : 1 : 5) 分液ロート中で充分振って放置後上層を用いた。(b) n-butanol : pyridine : water (6 : 4 : 3) を用いた。
- 3) 発色試薬
 - (a) アニリン水素フタレート試薬⁵⁾
 - (b) 過ヨウ素酸塩試薬⁶⁾を用いた。
- 4) 試料のスポット及び展開方法：濾紙 (40×40cm) の下部から7 cm のところに、標準糖試料とコーンからの試料とを2.5cm 間隔で交互にスポットして、溶媒中で33~38cm の線まで展開した。展開は室温で一次元上昇多重展開 (3回) を行った。
- 5) 遊離糖の同定：展開終了後風乾により溶媒を除き、発色試薬を噴霧し、図2に示すように遊離糖のペーパークロマトグラムを得た。(a), (b)発色試薬の種類による発色、標準試料との比較により又は文献なども参考に同定を行った。更に同定について確かな結果を得るために又分別定量を行うためにBinkleyら⁷⁾の方法によってイオン交換クロマトグラフィーを行った。即ち予め酸及び塩基で充分洗浄したDowex 1×8をカラムに詰め0.1 M Na₂B₄O₇で塩素イオンがほとんど陰性になるまで洗って樹脂をホウ酸塩型とした。水で過剰のNa₂B₄O₇を除去し、ついで展開に用いるNa₂B₄O₇で洗浄した。ペーパークロマトグラフィーでスイートコーン種実中に存在するものあるいはその可能性のある糖類を標準試料 (sucrose, raffinose, maltose, stachyose, fructose, glucose) として各々3 mgを用いて展開し、溶出位置を調べた。溶出液はアンスロン法で620nmで比色定量した。

4 多糖類について

1) ヨード呈色スペクトルの測定

グリコーゲンは試料10mg%, I₂:20mg%, KI:200mg%の条件で、澱粉は試料80mgを2.5 N NaOH水溶液2 mlに溶解させ、一夜放置後水を加えて希釈し80°Cで15分間加熱後100mlにした。これから10mlをとり水10mlを加えて2.5 N HClで中和後I₂:10mg%, KI:100mg%となるようにヨード液を加えて日立 spectrophotometer 124で吸光度を測定した。対照にはグリコーゲンはI₂:20mg%, KI:200mg%, 澱粉はI₂:10mg%, KI:100mg%の溶液を用いた。

2) IRスペクトルは日立 EPI-G21 spectrometer (KBr)で測定した。

3) NMR スペクトル

常法^{8,9)}にしたがって一夜反応させアセチル化を行いアセチル誘導体として日立 spectrometer (60MHz) R-24でTMSを内部標準として重クロロホルム中で測定した。

実験結果及び考察

図2から明らかなようにスイートコーン試料中の遊離糖はfructose, glucose, sucrose, raffinoseの4種類であった。PPC上で観察されるスポットの大きさと色の濃さから判断して量的に最も多いのはsucroseであり、glucoseとfructoseはほぼ同量と思われる。Raffinoseは非常に少なくstachyoseは検出されなかった。スイートコーンの特徴である甘味に最も大きく関与しているのはsucroseである。松下²⁾の報告によれば全生育期間中最も量的に多いの

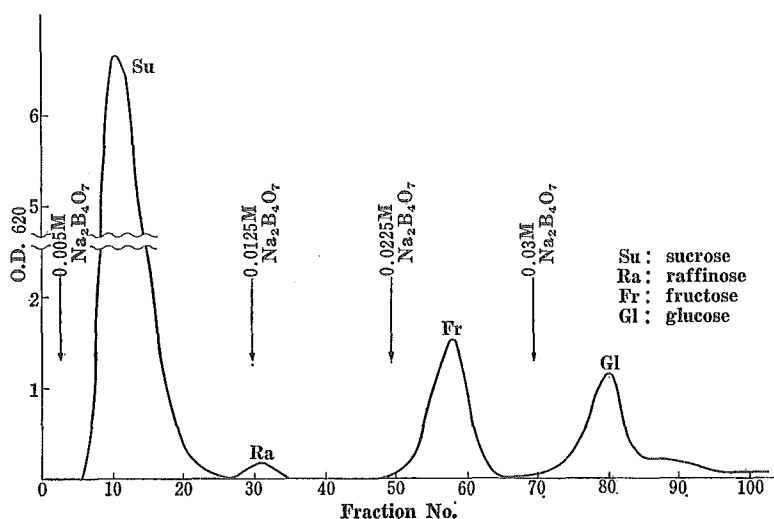


Fig. 3. Anion Exchange Column Chromatography of Sugars Contained in Sweet Corn Kernels.

Column : Dowex 1 (borate type), 200-400 mesh, 1cm×20cm

Solvent system : 0.005-0.03 M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, flow rate 1ml/min, 10ml/fraction.

Sample : Free sugars contained in sweet corn kernels.

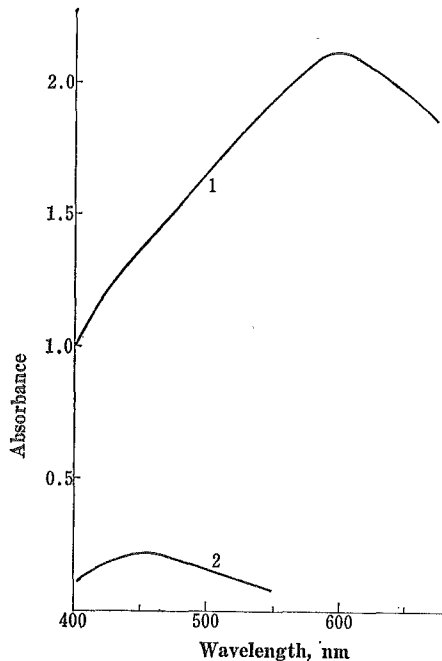


Fig. 4. Absorption Spectra of Glucan-iodine Complexes of Sweet Corn Polysaccharide; 1-starch, 2-phytyglycogen

が glucose であることから考えてこの実験に用いたトウモロコシはデントコーンかあるいは他の品種ではないかと思われる。いずれの品種であるにしても遊離糖の種類は松下²⁾の結果と一致している。糖のイオン交換クロマトグラフィーの結果(図3)から PPCの結果とよく一致し、量的に最も大きいのは sucrose で以下 fructose, glucose, raffinose の順であった。コーン試料 100 g 中量は多い順から sucrose (3.860g), fructose (0.800g), glucose (0.535g), raffinose (0.025g) であった。次に多糖についての結果について考察する。従来コーン種実中に存在する多糖の主成分は数多い論文のなかで澱粉として扱われてきた。普通グリコーゲンは動物あるいは微生物の貯蔵多糖であって植物界には極めて稀な例である。その化学構造は α -1, 4結合に α -1, 6の枝分れ結合を持って澱粉と基本構造は同一であるが α -1, 6の枝分れ結合が澱粉より多いのが特徴である。したがって枝分れ結合の

為に冷水可溶であってこの点澱粉と異なる。I₂ 呈色度も澱粉と異なり澱粉よりかなり小さく I₂ 呈色スペクトル (図4) における吸収極大はアミロペクチンよりも更に短波長にある。なおスイートコーンから調製したグリコーゲン及び澱粉を 2.5% HCl 水溶液中で加熱加水分解後その分解物を PPC, TLC で調べた結果 glucose のみが検出されその結果からも homo-glucan であることが支持された。IR, NMR の結果は従来の多数の報告の結果とよく一致した。

要 約

青果としての収穫適期に収穫されたスイートコーンのゴールドクロスバンタム種実中の遊離糖類及び多糖類について調べた結果を得た。

- 1) 遊離糖類として glucose, fructose, sucrose, raffinose の存在が確認された。このうち主成分は sucrose で次いで多いのは fructose, glucose で raffinose は極微量であった。
- 2) 多糖類として澱粉及びグリコーゲンが同定された。スイートコーン種実中の多糖の主成分はグリコーゲンであることがわかった。

なお、本報告の概要は昭和46年日本食品工業学会大会 (東京) 及び日本農芸化学会中部支部例会シンポジウム (津) で発表した。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり貴重な御意見、御指導いただきました黒沢辰一氏、IR, NMR の測定をしていただきました柴田久夫氏、又多大な御援助をいただきました食品化学研究室の専攻生諸氏、更に stachyose を提供下さいました静岡大学農学部水野卓夫氏に対して厚く御礼申し上げます。

引 用 文 献

- 1) 万豆剛一, 松村安男, 水戸喜平: 静岡農試研究報告, **11**, 105 (1966).
- 2) 松下アヤコ: 農化, **42**, 383 (1968).
- 3) 江上不二夫: 多糖生化学1, 共立出版, p.77 (1971).
- 4) 佐藤静一: 米及び米澱粉に関する研究, 大雅堂, p. 12 (1944).
- 5) S. M. Partidge: Nature, **164**, 443 (1949).
- 6) R. L. Metzberg, H. K. Mitchell: J. Am. Chem. Soc., **76**, 4187 (1954).
- 7) W. W. Binkley: Adv. Carbohydrate Chem., **10**, 55, Academic Press Inc., New York (1955).
- 8) 阿武喜美子, 瀬野信子: 実験化学講座, **23**, 434, 丸善 (1957).
- 9) 小野寺幸之進, 平野茂博: 化学の領域増刊, **71**, 125, 南江堂 (1965).
- 10) 鈴木 恕: 生化学研究法 (安藤, 寺山, 西沢, 山川編) **1**, 219, 朝倉書店 (1967).
- 11) E. Fischer: Chem. Ber., **49**, 584 (1916).

**Studies on Sugars in Sweet Corn (*Zea Mays* L. *Saccharata*) Kernels
(Part 1) Identification of Sugars contained in Sweet Corn Kernels**

By Koichi TATEISHI, Takashi IJIMA*

Laboratory of Food Chemistry, Fac. Agric., Shinshu Univ.

Summary

Golden Cross Bantam sweet corn grown in this experimental farm was harvested at the best eatable stage, 20 days after silking. Sugars in corn kernels were investigated. The following results were obtained.

- (1) Sweet corn kernels examined in this investigation contained sucrose as the major sugar, amounting to 73.9 % of total free sugars, 15.3 % of fructose, 10.2 % of glucose and small amount of raffinose.
- (2) In sweet corn kernels, phytoglycogen was dominant, occupying about 67.6 % of total α -glucan, and followed by starch.

*Iida Junior College