

## 大麦若葉からのarabinoxylanの分離と構造

# Isolation and Characterization of Arabinoxylan from Young Barley Leaves

伊藤聖子\*・斎藤安弘\*\*・齋藤正実\*\*・山本邦男\*\*\*・加藤陽治\*

Seiko ITO\*, Yasuhiro SAITO\*\*, Masami SAITOU\*\*, Kunio YAMAMOTO\*\*\*  
and Yoji KATO\*

### 論文要旨

大麦若葉粉末の水不溶性食物繊維構成多糖は、約55%がセルロースで約45%が非セルロース性多糖である。非セルロース性多糖の約70%を占めるアラビノキシランの化学構造を調べるために、アラビノキシランの分離・精製および、得られたアラビノキシランのキシラン加水分解酵素キシラナーゼによる屑片分析を行った。

水不溶性食物繊維画分から、4%の水酸化カリウム抽出画分へミセルロース I をDEAE-Sephadex A-25 (酢酸型) に供し、非吸着型アラビノキシラン-I と吸着型アラビノキシラン-II を49:37で得た。アラビノキシラン-I の構成糖は、ウロン酸:ラムノース:フコース:アラビノース:ガラクトース:グルコース:キシロース=微量:0:0.3:25.2:10.6:2.1:61.8で、アラビノキシラン-II のそれは、微量:2.2:0.2:24.0:8.5:0.5:64.6であった。キシラナーゼ加水分解物中のキシロオリゴ糖 (重合度1~3) と側鎖を有するキシロオリゴ糖の比率は、アラビノキシラン-I で28:72、アラビノキシラン-II で11:89であった。これらの結果より、大麦若葉粉末に由来するアラビノキシラン-I と-II の違いは側鎖構成成分のアラビノース残基等による分岐率とそれらのキシラン主鎖上での分布状態に違いがあると推定された。

キーワード: 大麦若葉、水不溶性食物繊維、多糖類、アラビノキシラン

### 1. 緒言

種々の天然食品素材が疾病予防効果や生体調節作用を有することが知られている。その一つに食物繊維<sup>1)</sup>がある。食物繊維の大部分はほとんどが多糖類から構成されている植物細胞壁に由来する<sup>2)</sup>。いろいろな幼植物を原材料にした機能性食品があり、大麦若葉もその一つである。前報<sup>3)</sup>において、大麦若葉乾燥粉末の食物繊維画分の多糖類の種類とその量を調べたところ、①大麦若葉粉末の水可溶性食物繊維画分と水不溶性食物繊維画分に含まれる全糖量比は1:13.7で、ほとんどが水不溶性食物繊維から成ること、そして、②水不溶性食物繊維画分を構成する多糖は約55%がセルロース、約30%がアラビノグルクロノキシラン、約3%がキシログルカン、約5%が側鎖を有するラ

ムノガラクトツロナン、約7%がその他の多糖であることを明らかにした。

本研究では非セルロース多糖の約70%を占めるアラビノグルクロノキシランの構造を調べるために、本多糖の分離・精製を行うとともに、キシラナーゼによる屑片分析を行ったので、その結果を報告する。

### 2. 実験材料および方法

#### 1) 材料

大麦若葉粉末の水不溶性食物繊維画分から得られた、4%水酸化カリウム抽出上清のへミセルロースIB (HC-IB) 画分 (ウロン酸:ラムノース:フコース:アラビノース:ガラクトース:グルコース:キシロース=10.8:1.2:0.2:21.7:7.1:1.7:57.2) を

\* 弘前大学教育学部家政学科教室  
Department of Home Economics, Faculty of Education, Hirosaki University  
\*\* (株)総合健康開発研究所  
Institute of General Health Development Co., Ltd.  
\*\*\*山本漢方製薬(株)  
Yamamoto Kanpoh Pharmaceutical Co., Ltd.

用いた。

## 2) HC-IBのDEAE-Sephadex A-25カラムクロマトグラフィー

HC-IB画分 (619.45mgグルコース相当量) を20mM酢酸緩衝液 (pH5.5) に溶解、遠心操作 (5,000rpm、30分) にて不溶物を除去し、上清 (39ml) を得た。上清の全糖量をフェノール・硫酸法<sup>4)</sup> にて測定し、これをDEAE-Sephadex A-25カラムクロマトグラフィーに供した。試料619.45mg (全糖量) を同緩衝液で平衡化したカラム (5×20cm) にのせ、1,000mlの20mM酢酸緩衝液で溶出した。次に、1,000mlの0.2M塩化ナトリウムを含む20mM酢酸緩衝液、引き続き1,000mlの0.5M塩化ナトリウムを含む同緩衝液、最後に、1,000mlの0.5M水酸化ナトリウムを含む同緩衝液の溶出を行った。溶出液は20mlずつフラクションコレクターで試験管に集め、その中から適量とり、フェノール・硫酸法にて全糖量 (Absorbance at 490nm) およびカルバゾール・硫酸法<sup>5)</sup> にて酸性糖量 (Absorbance at 530nm) を測定した。試験管番号6~23、60~72および157~175をそれぞれ集め、HC-IB-1、2および3画分とした。HC-IB-1、2はそのまま、HC-IB-3画分は酢酸で中和し、流水で透析後に蒸留水に対して透析し、それぞれ透析内液を凍結乾燥した。

HC-IB-1 (175.65mgグルコース相当量) を10mlの20mM酢酸緩衝液 (pH5.5) に溶解、遠心操作 (5,000rpm、30分) にて不溶物を除去した上清を、同緩衝液で平衡化したDEAE-Sephadex A-25カラム (2.5×18cm) に供した。はじめに、200mlの20mM酢酸緩衝液 (pH5.5) で溶出し、次に200mlの0.2M塩化ナトリウムを含む同緩衝液、引き続き200mlの0.5M塩化ナトリウムを含む同緩衝液、最後に、200mlの0.5M水酸化ナトリウムを含む同緩衝液の溶出を行った。溶出液は10mlずつ集め、その中から適量とり、全糖量および酸性糖量を測定した。試験管番号3~12、23~34および43~48をそれぞれ集め、HC-IB-1-1、2および3画分に分け、流水で透析後、蒸留水に対して透析し、それぞれ透析内液を凍結乾燥した。HC-IB-1-1をアラビノキシラン-Iとして以後の実験を行った。

HC-IB-2 (134.13mgグルコース相当量) を8mlの20mM酢酸緩衝液 (pH5.5) に溶解、遠心操作 (5,000rpm、30分) にて不溶物を除去した上清

を、同緩衝液で平衡化したDEAE-Sephadex A-25カラム (2.5×18cm) に供した。はじめに、200mlの20mM酢酸緩衝液 (pH5.5) で溶出し、次に200mlの0.2M塩化ナトリウムを含む同緩衝液、引き続き200mlの0.5M塩化ナトリウムを含む同緩衝液、最後に、200mlの0.5M水酸化ナトリウムを含む同緩衝液の溶出を行った。溶出液は10mlずつ集め、その中から適量とり、全糖量および酸性糖量を測定した。試験管番号3~8、24~31、32~44および45~50をそれぞれ集め、HC-IB-2-1、2、3および4画分に分け、流水で透析後、蒸留水に対して透析し、それぞれ透析内液を凍結乾燥した。HC-IB-2-2をアラビノキシラン-IIとして以後の実験を行った。

## 3) 糖結合様式の分析

アラビノキシラン-Iおよび-II (約5mgキシロース相当量) を箱守法<sup>6)</sup> にてメチル化した。メチル化多糖は酸で加水分解後、水素化ホウ素ナトリウムで還元してアルジトールにし、ピリジンと無水酢酸でアセチル化し、ガスクロマトグラフィーによる分析<sup>7)</sup> を行った。ガスクロマトグラフは日立製のG-5000を用い、カラムはJ&W社のヒューズドシリカキャピラリーカラムDB-225 (0.32mm×15m) を用い、140°Cから200°Cまで1分あたり2°Cの昇温で分析した。

## 4) 精製キシラナーゼ処理および酵素分解物の分画

アラビノキシラン-I (36.4mgキシロース相当量) を5mlの20mM酢酸緩衝液 (pH5.5) に溶解し、精製エンド-1,4-β-キシラナーゼ<sup>8,9)</sup> 50μlを加え、40°Cで48時間反応させた。反応終了後、沸騰湯浴中で処理して酵素を失活させ、これに4倍量のメタノールを加え、遠心操作 (5,000rpm、30分) により上清と沈殿に分けた。上清を減圧乾固後、蒸留水 (1.0ml) に溶解し、あらかじめ蒸留水で平衡化しておいたBio-Gel P-2のガラスカラム (2.5×40cm) にのせ、蒸留水で溶出した。溶出液は2.0mlずつフラクションコレクターで集め、そのなかから適量とり、フェノール・硫酸法にて糖量を測定した。試験管番号73~77、68~72、61~67、55~60、52~54、49~51および27~48をそれぞれ集め、I-a、I-b、I-c、I-d、I-e、I-fおよびI-g画分とした。

アラビノキシラン-II (33.2mgキシロース相当

量)を5mlの20mM酢酸緩衝液(pH5.5)に溶解し、精製キシラーゼ50 $\mu$ lを加え、40 $^{\circ}$ Cで48時間反応させた。反応後、HC-IB-1-1と同様の操作を行い、Bio-Gel P-2のゲル濾過クロマトグラフィーに供した。試験管番号72~77、66~71、59~65、53~58、43~52、39~42、34~38および25~33をそれぞれ集め、II-a、II-b、II-c、II-d、II-e、II-f、II-gおよびII-h画分とした。

### 5) オリゴ糖分析

精製キシラーゼ酵素分解物のオリゴ糖分析には、パルスドアンペロメトリー検出(金電極)付きのイオンクロマトDX-300(日本ダイオネクス社)による陰イオンクロマトグラフィーで行った<sup>10)</sup>。分離カラムはCarboPac PA1を、ガードカラムはCarboPac PA1 GUARDを用いた。分析には溶離液A(100mM水酸化ナトリウム)と溶離液B(500mM酢酸ナトリウム/100mM水酸化ナトリウム)を用い、酢酸ナトリウムの濃度勾配(0~50分、0~100mM)による溶出を1.0ml/分の流量で行った。

### 6) 構成糖分析

中性糖量:試料1ml(100 $\mu$ gグルコース相当量)を1mlの2Mトリフルオロ酢酸で3時間、100 $^{\circ}$ C

で加水分解し、分解物を減圧乾固、200 $\mu$ lの超純水に溶解し、イオンクロマトDX-300を用いて構成糖分析を行った。分離カラムはCarboPac PA1を、ガードカラムはCarboPac PA1 GUARDを用いた。分析には溶離液に超純水を用い、1.0ml/分の流量で溶出した。

酸性糖量:試料溶液から適量とり、カルバゾール・硫酸法にてガラクトロン酸相当量として求めた。ただし、本法では中性糖も発色するので、あらかじめその影響量を算出、カルバゾール・硫酸法で求めた値から差し引き[真の酸性糖量=カルバゾール・硫酸法にて求めた酸性糖量-(イオンクロマトグラフィーで求めた中性糖量 $\times$ 0.23)]、それを酸性糖量とした<sup>11)</sup>。

## 3. 結果および考察

### 1) 大麦若葉アラビノキシランの分離・精製

大麦若葉粉末の水不溶性食物繊維画分から、先に調製したヘミセルロースIB画分(ウロン酸:ラムノース:フコース:アラビノース:ガラクトース:グルコース:キシロース=10.8:1.2:0.2:21.7:7.1:1.7:57.2)を、先ずDEAE-Sephadex A-25イオン交換クロマトグラフィーに供した。20mM酢酸緩衝液(pH5.5)、0.2MNaClを含む同緩衝液、0.5MNaClを含む同緩衝液および0.5MNaOHで

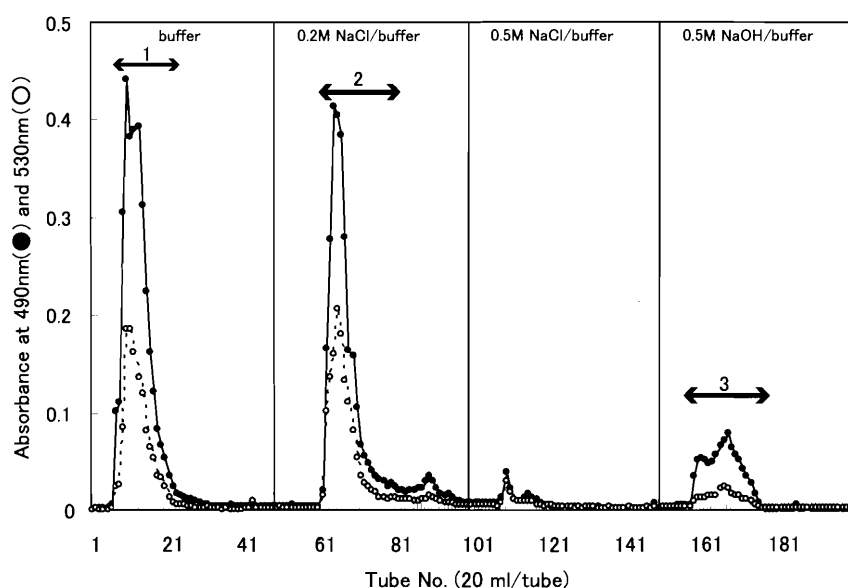


Fig. 1. DEAE Sephadex A-25 chromatography of fraction HC-IB obtained from young barley leaves. HC-IB (619.45 mg as Glc equiv. / 39 ml 20mM Na-acetate buffer, pH 5.5) was applied to a column (5 $\times$ 20cm) of DEAE Sephadex A-25 equilibrated with the same buffer. The column was eluted stepwise with 20mM Na-acetate buffer, 20mM Na-acetate buffer containing 0.2M NaCl and 0.5M NaCl, and 0.5M NaOH. Tubes 6~23, 60~72 and 157~175 were separately combined to give fractions HC-IB-1, -2 and -3.

Table 1. Sugar composition and ratio of fractions HC-IB-1~3 obtained from fraction HC-IB after chromatography on DEAE Sephadex A-25.

Fraction	Total sugar (mg)	Ratio (%)	Sugar composition (wt%)							
			U.A.	Rha	Fuc	Ara	Gal	Glc	Xyl	Man
HC-IB	619.45		10.8	1.2	0.2	21.7	7.1	1.7	57.2	0
HC-IB-1	246.18	48.7	tr.	1.7	0.4	23.3	12.7	2.7	59.2	0
2	188.60	37.3	tr.	1.5	0.3	26.1	11.0	0.9	60.2	0
3	70.98	14.0	tr.	0	tr.	11.7	1.3	5.0	82.0	0

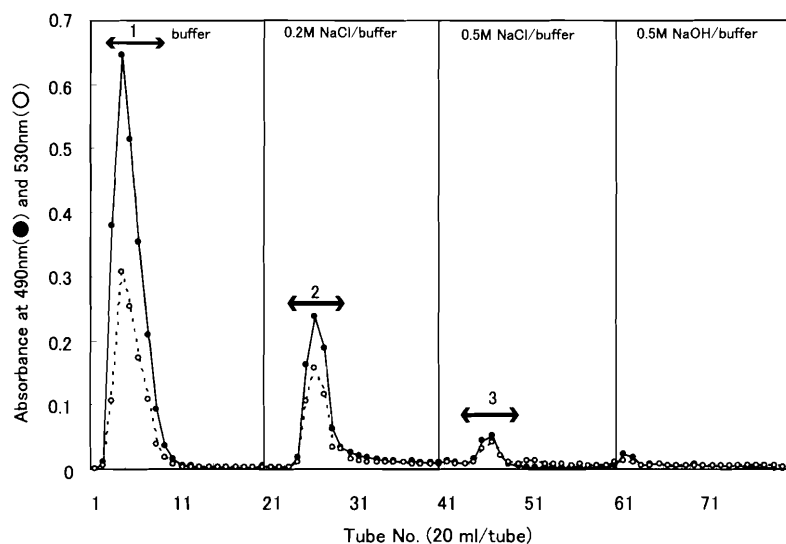


Fig. 2. DEAE Sephadex A-25 chromatography of fraction HC-IB-1 obtained in Fig. 1.

HC-IB-1 (175.65 mg as Glc equiv. / 10 ml 20mM Na-acetate buffer, pH 5.5) was applied to a column (2.5 × 18 cm) of DEAE Sephadex A-25 equilibrated with the same buffer. The column was eluted stepwise with 20mM Na-acetate buffer, 20mM Na-acetate buffer containing 0.2M NaCl and 0.5M NaCl, and 0.5M NaOH. Tubes 3~12, 23~34 and 43~48 were separately combined to give fractions HC-IB-1-1, -2 and -3.

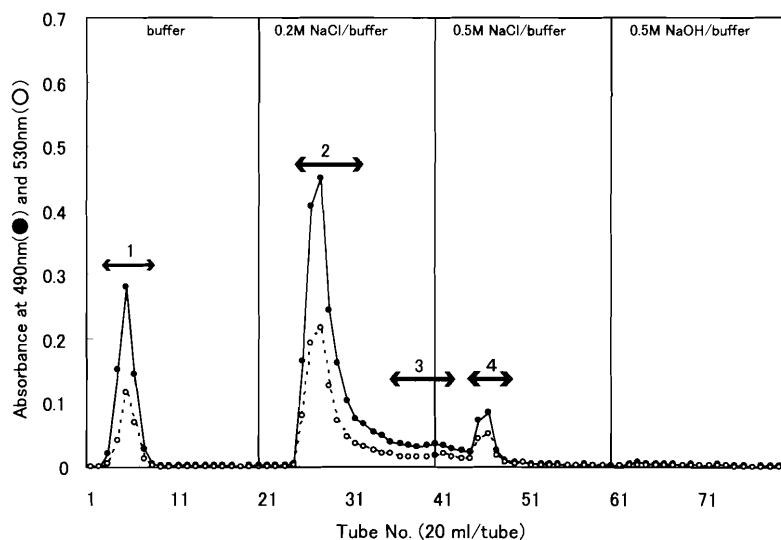


Fig. 3. DEAE Sephadex A-25 chromatography of fraction HC-IB-2 obtained in Fig. 1.

HC-IB-2 (134.13 mg as Glc equiv. / 8 ml 20mM Na-acetate buffer, pH 5.5) was applied to a column (2.5 × 18 cm) of DEAE Sephadex A-25 equilibrated with the same buffer. The column was eluted stepwise with 20mM Na-acetate buffer, 20mM Na-acetate buffer containing 0.2M NaCl and 0.5M NaCl, and 0.5M NaOH. Tubes 3~8, 24~31, 32~44 and 45~50 were separately combined to give fractions HC-IB-2-1, -2, -3 and -4.

Table 2. Sugar composition and ratio of fractions HC-IB-1-1~3 obtained from fraction HC-IB-1 after chromatography on DEAE Sephadex A-25.

Fraction	Total sugar (mg)	Ratio (%)	Sugar composition (wt%)							
			U.A.	Rha	Fuc	Ara	Gal	Glc	Xyl	Man
HC-IB-1-1	113.08	71.9	tr.	-	0.3	25.2	10.6	2.1	61.8	0
1-2	37.83	24.1	tr.	-	0.3	28.7	14.2	0.6	56.2	0
1-3	6.32	4.0	tr.	-	0.3	32.1	12.4	0.6	54.6	0

Table 3. Sugar composition and ratio of fractions HC-IB-2-1~4 obtained from fraction HC-IB-2 after chromatography on DEAE Sephadex A-25.

Fraction	Total sugar (mg)	Ratio (%)	Sugar composition (wt%)							
			U.A.	Rha	Fuc	Ara	Gal	Glc	Xyl	Man
HC-IB-2-1	23.69	18.8	tr.	1.6	0.4	28.9	13.3	1.4	54.4	0
2-2	70.47	56.1	tr.	2.2	0.2	24.0	8.5	0.5	64.6	0
2-3	22.47	17.9	tr.	0.8	0.2	24.4	7.5	0.4	66.7	0
2-4	9.09	7.2	tr.	3.1	0.3	27.8	11.7	0.6	56.5	0

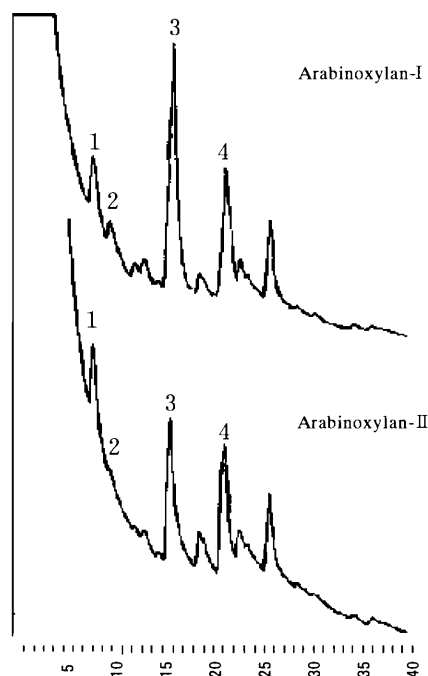


Fig. 4. Gas chromatogram of the partially methylated alditol acetates obtained from the acid hydrolyzates of the methylated arabinoxylan- I and - II.

Peaks 1, 2, 3 and 4 are 2,3,5-Me<sub>3</sub>-Ara (2,3,5-tri-O-methyl-1,4-di-O-acetyl-arabinitol), 2,3,4-Me<sub>3</sub>-Xyl, 2,3- and/or 3,4-Me<sub>2</sub>-Xyl, and 2- and/or 3-Me<sub>1</sub>-Xyl, respectively.

順次溶出した。緩衝液 (HC-IB-1)、0.2MNaCl (HC-IB-2) および0.5MNaOH (HC-IB-3) で溶出した3画分に糖の溶出が認められた (Fig. 1)。それぞれの画分の収量と構成糖組成比をまとめたのがTable 1である。HC-IB-1とHC-IB-2がそ

れぞれHC-IBの約50%と約40%を占めるが、構成糖組成比に大きな差は認められなかった。両画分をさらに精製するために、それぞれを再度DEAE-Sephadex A-25イオン交換クロマトグラフィーに供した (Fig. 2およびFig. 3)。HC-IB-1およびHC-IB-2からそれぞれ得られた各画分の収量と構成糖組成比をまとめたのがTable 2およびTable 3である。HC-IB-1-1およびHC-IB-2-2をそれぞれ、大麦若葉アラビノキシラン-I (ウロン酸：フコース：アラビノース：ガラクトース：グルコース：キシロース=微量：0.3：25.2：10.6：2.1：61.8) およびアラビノキシラン-II (ウロン酸：ラムノース：フコース：アラビノース：ガラクトース：グルコース：キシロース=微量：2.2：0.2：24.0：8.5：0.5：64.6) として、以後の実験を進めた。

大麦若葉アラビノキシラン-I および-IIのβ-1,4-D-キシラン主鎖の分岐率を調べるため、メチル化分析を行い、特にアラビノースおよびキシロース残基の結合様式に注目した (Fig. 4およびTable 4)。アラビノキシラン-Iは、非還元末端アラビノース：非還元末端キシロース：4-結合キシロース：2,3-結合キシロース=9.8：3.5：55.3：31.4であり、アラビノキシラン-IIは、非還元末端アラビノース：非還元末端キシロース：4-結合キシロース：2,3-結合キシロース=12.2：0.6：38.3：48.9であった。4-結合キシロースと2,3-結合キシロースの割合より、アラビノキシラン-Iは主鎖のβ-1,4-D-キシロース残基の約36%が、アラビノ

Table 4. The ratio of T-Ara, T-Xyl, 4- and/or 2-Xyl, and 3,4- and/or 2,3-Xyl in the arabinoxylan-I and -II.

PeakNo.	Methylated sugar linkage	Deduced glycosidic linkage*	Ratio (% area)	
			Arabinoxylan-I	Arabinoxylan-II
1	2,3,5-Me <sub>3</sub> -Ara**	T-Ara	9.8	12.2
2	2,3,4-Me <sub>3</sub> -Xyl	T-Xyl	3.5	0.6
3	2,3- and/or 3,4-Me <sub>2</sub> -Xyl	4- and/or 2-Xyl	55.3	38.3
4	2- and/or 3-Me <sub>1</sub> -Xyl	3,4- and/or 2,3-Xyl	31.4	48.9

\* The numerical prefixes represent the carbon atoms involved in glycosidic linkages in the original polysaccharides. Prefix T indicates sugar linked through C(O)-1 only.

\*\* 2,3,5-Me<sub>3</sub>-Ara=2,3,5-tri-O-methyl-1,4-di-O-acetyl-arabinitol, etc.

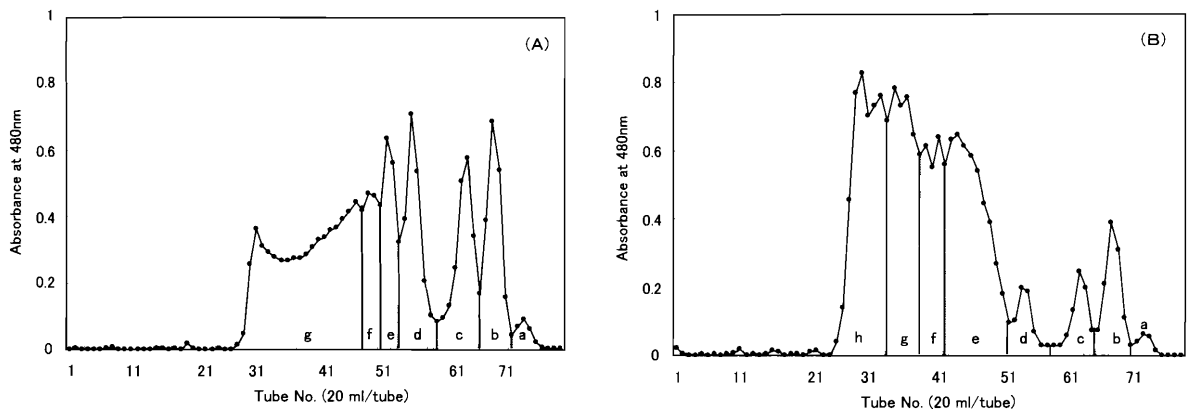


Fig. 5. Separation by gel filtration on Bio-Gel P-2 of the xylanase-hydrolyzate of arabinoxylan-I and-II obtained from young barley leaves.

A : The xylanase-hydrolyzate of arabinoxylan-I (36.4 mg as Xyl equiv.) was put on a column (2.5×40cm) of Bio-Gel P-2, followed by filtration through the column with water. Tubes 73~77, 68~72, 61~67, 55~60, 52~54, 49~51 and 27~48 were combined to give fraction I -a, -b, -c, -d, -e, -f and -g, respectively.

B : The xylanase-hydrolyzate of arabinoxylan-II (33.2 mg as Xyl equiv.) was put on a column (2.5×40cm) of Bio-Gel P-2, followed by filtration through the column with water. Tubes 72~77, 66~71, 59~65, 53~58, 43~52, 39~42, 34~38 and 25~33 were combined to give fraction II -a, -b, -c, -d, -e, -f, -g and -h, respectively.

キシラン-IIは約56%が側鎖をもつ構造であると示唆された。両アラビノキシランの構成糖組成比から、アラビノースの他にガラクトースなども検出されており、アラビノース以外の側鎖構造も考えられるが、今回のメチル化分析では側鎖の詳細構造について同定することはできなかった。

## 2) 大麦若葉アラビノキシラン-I および-II のキシラナーゼによる屑片分析

大麦若葉アラビノキシラン-I および-II、それぞれを精製キシラナーゼで加水分解し、加水分解物をBio-Gel P-2のゲル濾過クロマトグラフィーに供した (Fig. 5)。構成糖組成比に大きな違いが認

Table 5. Sugar composition and ratio of fractions I -a~ I -g obtained from the xylanase-hydrolyzed arabinoxylan-I after chromatography on Bio-Gel P-2.

Fraction	TubeNo. in Fig.5-A	Total sugar(mg)	Ratio (%)	Sugar composition (wt%)							
				U.A.	Rha	Fuc	Ara	Gal	Glc	Xyl	Man
I -a	73~77	0.21	1.5	-	-	-	15.2	0.6	1.2	83.0	0
b	68~72	1.74	12.4	-	-	-	0.4	0.2	0.1	99.3	0
c	61~67	1.99	14.2	-	-	-	0.8	0.2	2.0	97.0	0
d	55~60	1.92	13.7	-	-	-	20.1	0.5	2.0	77.4	0
e	52~54	1.54	10.9	-	-	tr.	18.2	0.8	2.0	79.0	0
f	49~51	1.28	9.1	-	-	0.1	19.6	1.5	5.3	73.5	0
g	27~48	5.38	38.2	-	-	0.3	27.4	5.3	6.1	60.9	0

Table 6. Sugar composition and ratio of fractions II-a~II-h obtained from the xylanase-hydrolyzed arabinoxylan-II after chromatography on Bio-Gel P-2.

Fraction	TubeNo. in Fig.5-B	Total sugar(mg)	Ratio (%)	Sugar composition (wt%)							
				U.A.	Rha	Fuc	Ara	Gal	Glc	Xyl	Man
II-a	72~77	0.13	1.0	-	-	-	3.5	0.7	1.6	94.2	0
b	66~71	0.75	6.0	-	-	-	0.3	0.3	0.5	98.9	0
c	59~65	0.47	3.7	-	-	tr.	2.5	1.5	0.9	95.1	0
d	53~58	0.49	3.8	-	-	0.2	18.6	2.0	0.9	78.3	0
e	43~52	2.98	23.7	-	-	0.1	12.5	2.0	0.4	85.0	0
f	38~42	1.62	12.9	-	-	0.1	16.7	2.8	0.7	79.7	0
g	34~38	2.20	17.5			0.2	21.1	5.9	0.6	72.2	0
h	25~33	3.95	31.4	-	-	0.5	27.4	10.3	1.0	60.8	0

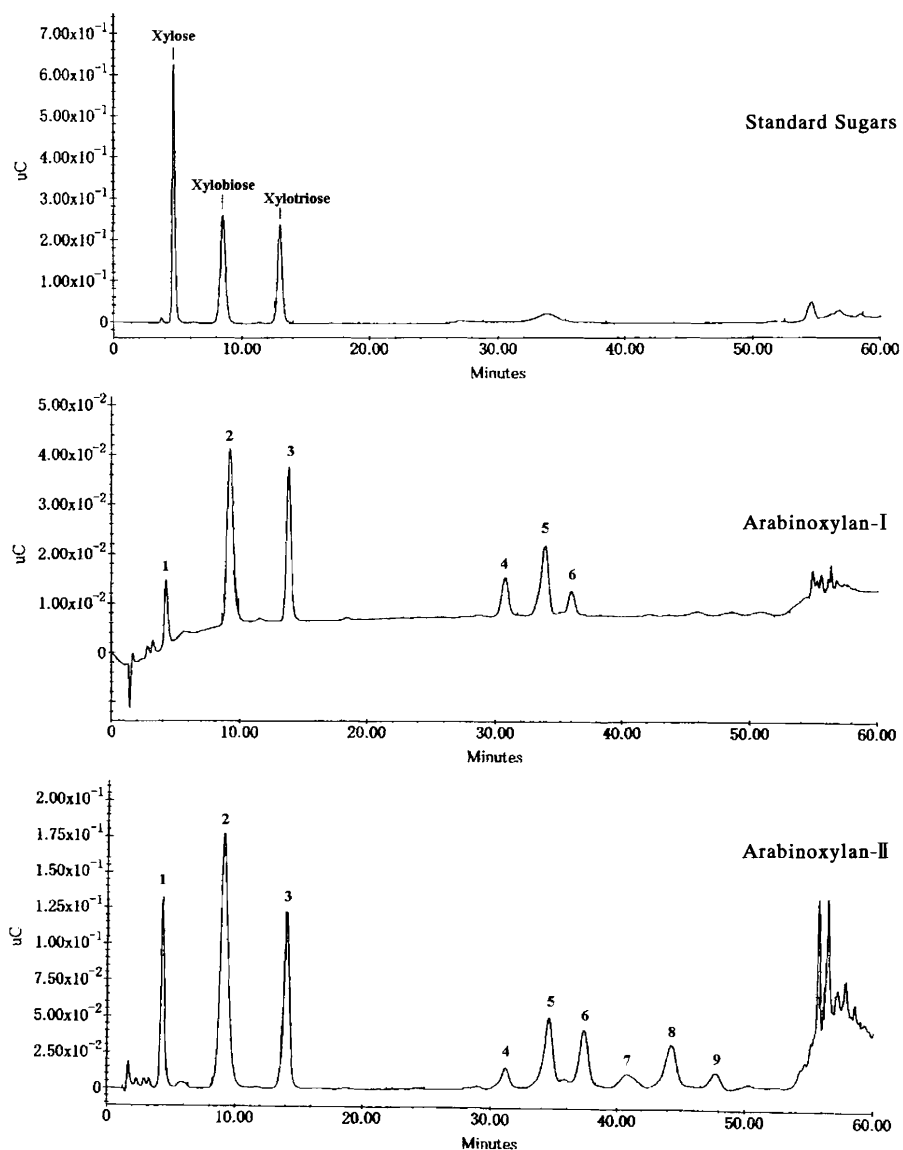


Fig. 6. HPAEC chromatograph of the xylanase-hydrolyzate of arabinoxylan-I and-II obtained from young barley leaves.

められずメチル化分析から分岐率の違いが示唆された大麦若葉アラビノキシラン-I と-II であったが、Fig. 5 からわかるようにキシランナーゼ加水分解物の分子量分布に両者で大きな違いが認められた。即ち、重合度1～3に相当するオリゴ糖および重合度5以上のオリゴ糖の割合を求めると、アラビノキシラン-I では28:72、そしてアラビノキシラン-II では11:89であった。それぞれの加水分解物から得られたオリゴ糖各画分の構成糖組成 (Table 5 および Table 6) を見てみると、両者とも重合度5以上のオリゴ糖画分には顕著な量のアラビノースの存在が認められており、容易にアラビノキシロオリゴ糖の存在が推定される。

さらに、アラビノキシラン-I および-II のキシランナーゼ加水分解物をダイオネクス社の陰イオンクロマトグラフィーに供した時の溶出パターンを Fig. 6 に示す。アラビノキシラン-I および-II の加水分解物に見られるピーク1～3はいずれも標準の $\beta$ -1,4-D-キシロオリゴ糖(キシロース、キシロビオース、キシロトリオース)の溶出時間と一致していることから、それぞれキシロース、 $\beta$ -1,4-D-キシロビオース、 $\beta$ -1,4-D-キシロトリオースであると考えられることができる。それらの割合はアラビノキシラン-I の場合、加水分解物全体の1.5%、12.4%、14.2%で、アラビノキシラン-II の場合は加水分解物全体の1.0%、6.0%、3.7%であった。この値は、ゲル濾過の結果とほぼ一致している。また、アラビノキシラン-I の加水分解物に見られるピーク4、5、6とアラビノキシラン-II の加水分解物に見られるピーク4、5、6は同一物と考えられるが、詳細は不明である。ただし、Bio-Gel P-2のゲル濾過クロマトグラフィーで得られた各画分の構成糖分析の結果 (Table 5 および Table 6) より判断すると、アラビノースを含むキシロオリゴ糖である可能性が非常に高い。また、アラビノキシラン-I の加水分解物にはほとんど認められず、アラビノキシラン-II の加水分解物に認められるピーク7、8、9は、さらに重合度の高いアラビノキシロオリゴ糖等であると推定される。

これらの結果から、大麦若葉アラビノキシラン-I と-II の違いは、 $\beta$ -1,4-D-キシラン主鎖のキシロース残基のO-2またはO-3の位置に結合しているアラビノース残基などの側鎖成分の分岐率の違いと、分布状況の違いであると考えられる。

### 3) 総合考察

今回の研究から、大麦若葉の非セルロース性多糖画分に存在する多糖の大部分は、 $\beta$ -1,4-D-キシランを主鎖としたアラビノキシランであることが明らかとなった。そのアラビノキシランは、イオン交換体に非吸着タイプのもの(アラビノキシラン-I)と吸着するタイプのもの(アラビノキシラン-II)があることがわかった。

これまで、大麦暗発芽幼植物細胞壁から分離した酸性アラビノキシランは $\beta$ -1,4-D-キシランを主鎖とし、そのキシロース残基の約50%がO-2もしくはO-3の位置がアラビノース残基とグルクロン酸残基により置換されている構造を有することが報告されている<sup>12)</sup>。さらに、トウモロコシ暗発芽幼植物から得たグルクロノアラビノキシランは $\beta$ -1,4-D-キシランを主鎖とし、そのキシロース残基の約60～70%がO-2もしくはO-3の位置でアラビノース、グルクロン酸あるいはその他の糖残基で置換された構造を有することも報告されている<sup>13)</sup>。また、トウモロコシには、低分岐キシランと高分岐キシランが存在し、その分布がトウモロコシ組織により異なることも報告されている<sup>14)</sup>。

一般に、禾本科植物細胞壁に存在するアラビノキシランのアラビノースとキシロースの比率は、組織の生長に伴い変化し、生長するとともにアラビノースの割合が減少することが知られている。今回の大麦若葉細胞壁中に分岐率の異なるアラビノキシランの存在が明確になったが、詳細な構造解析および機能性の違いの有無などの研究が今後必要である。

### 引用文献

- 1) 齋藤衛郎, 高橋敦彦, 武林亨: 高コレステロール血症の改善, 虚血性心疾患および糖尿病予防のための食物繊維の適正摂取量, 日本栄養・食糧学会誌, 53, 87-94 (2000)
- 2) 印南敏, 桐山修八編: 改訂新版食物繊維, 第一出版株式会社, 東京, (1995)
- 3) 加藤陽治, 吉田孝, 佐々木一, 齋藤安弘, 齋藤正実, 山本邦男: 大麦若葉の食物繊維に含まれる多糖類, 弘前大学教育学部紀要, 91, 59-66 (2004)
- 4) Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F.: Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.*, 28, 350 (1956)
- 5) Bitter, T and Muir, H. M.: A modified uronic



- acid carbazole reaction. *Anal. Biochem.*, 4, 330-334 (1962)
- 6) Hakomori, S. : A rapid permethylation of glycolipid and polysaccharide catalyzed by methylsulfinyl carbanion in dimethyl sulfoxide. *J. Biochem.*, 55, 205-208 (1964)
- 7) Lindberg, B. : Methylation analysis of polysaccharides. *Meth. In Enzymol.*, 28, 178-195 (1972)
- 8) Mitsuishi, Y., Yamanobe, T., Yagisawa, M. and Takasaki, Y. : Purification and properties of thermostable xylanase from mesophilic fungus strain Y-94. *Agric. Biol. Chem.*, 51, 3207-3213 (1987)
- 9) Mitsuishi, Y., Yamanobe, T. and Yagisawa, M. : The modes of action of three xylanases from mesophilic fungus strain Y-94 on xylooligosaccharides. *Agric. Biol. Chem.*, 52, 921-927 (1988)
- 10) Konishi, Y., Mitsuishi, Y and Kato, Y. : Analysis of the oligosaccharide units of xyloglucans by digestion with isoprimeverose-producing oligoxyloglucan hydrolase followed by anion-exchange chromatography. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 45, 401-405 (1998)
- 11) 加藤陽治, 松倉純子 : 主要葉菜類の炭水化物組成, 弘前大学教育学部紀要, 71, 61-71 (1994)
- 12) Kato, Y., Iki, K and Matsuda, K. : Characterization of an acidic arabinoxylan from cell walls of immature barley plants. *Agric. Biol. Chem.*, 52, 533-538 (1988)
- 13) Kato, Y and Nevins, D.J. : Enzymic dissociation of zeae shoot cell wall polysaccharides. *Plant Physiol.*, 75, 740-744 (1984)
- 14) Suzuki, K., Kitamura, S., Kato, Y and Itoh, T. : Highly substituted glucuronoarabinoxylans (hsGAXs) and low-branched xylans show a distinct localization pattern in the tissues of zeae mays L. *Plant Cell Physiol.*, 41, 948-959 (2000)

(2004. 7. 30受理)