

ゾーン電気泳動とガスクロマトグラフィーによる植物ゴムおよび粘質物の定性分析

友田正司, 秋山朝子
共立薬科大学*1Qualitative Analyses of Plant Gums and Mucilages by the Uses of
Zone-electrophoresis and Gas-liquid ChromatographyMASASHI TOMODA and TOMOKO AKIYAMA
Kyōritsu College of Pharmacy*1

(Received August 30, 1969)

Summary

Separation of three plant exudates, Gums Arabic, Tragacanth and Karaya, and three plant seed store polysaccharides, of Guar, Carob (Locust) and Tamarind trees, was attempted by zone-electrophoresis over glass fiber paper. The effective procedure for qualitative analysis of them was found to be the uses of solvent systems of sodium hydroxide-borax buffer (pH 12) and pyridine-acetic acid buffer (pH 4.1).

Gas-liquid chromatography of trimethylsilylated methanolizates of these samples was also carried out using 5% SE 30 on Chromosorb G column, and the results obtained showed to be available for the identification of each polysaccharide.

植物の切口から分泌される粘稠液を乾燥して得られるいわゆる植物ゴムの中で、アラビアゴム (Gum Arabic)、トラガント (Gum Tragacanth) およびカラヤゴム (Gum Karaya) は、粘稠剤、乳化剤などの用途で薬用および食用に使われることが多く、植物種子の貯蔵物質である Guar seed, Carob seed (Locust bean) および Tamarind seed の多糖類も、同様の用途で食品、織物または製紙工業に使われている。

アラビアゴムはマメ科の *Acacia senegal* WILDENOW および同属数種の幹および枝から得られる分泌物で、西アフリカおよびナイル河流域を産地とする。トラガントもマメ科の *Astragalus gummifer* LABILLARDIERE および同属数種植物の幹から得られる分泌物で、西アジアおよび東南ヨーロッパが産地である。カラヤゴムはベニノキ科の *Cochlospermum gossypium* D. C. またはアオギリ科の *Sterculia urens* ROXBURG から得られる分泌物で、インドおよびイランに産出する。

3種の植物種子貯蔵物質の多糖類はいずれもマメ科植物から得られ、Guar seed はインド西部と西パキスタンに産する *Cyamopsis tetragonoloba* TAUB. を、Carob seed は地中海沿岸地方に産する *Ceratonia siliqua* L. を、Tamarind seed はインド原産で熱帯各地に産する *Tamarindus indica* L. を、それぞれ原植物とする。

これらの植物ゴムおよび粘質物の粉末の外観はよく類似しており、化学的にはいずれも多糖類であるので相互の鑑別が問題となる。日本薬局方では、アラビアゴムについて水溶性と希次酢酸鉛試液による沈殿反応を、トラガントとカラヤゴムに対してデンプン粒の有無と塩酸による呈色反応を試験法として採用しているが、各種の植物ゴムおよび粘質物の分析法として、赤外線吸収スペクトルによる方法¹⁻³⁾、加水分解後濾紙クロマトグラフィーまたは薄層クロ

*1 Location : Shiba-kōen, Minato-ku, Tokyo.

- 1) S. H. Newburger, J. H. Jones, G. R. Clark, *Proc. Sci. Sect. Toilet Goods Assoc.*, **19**, 25 (1953) [*C. A.*, **47**, 9040a (1953)].
- 2) J. A. McNulty, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, **43**, 624 (1960) [*C. A.*, **54**, 25371h (1960)].
- 3) A. T. Proszynski, A. J. Michell, C. M. Stewart, *Aust. Com. Sci. Ind. Res. Organ. Div. Forest Prod. Technol. Paper No. 38*, **19** (1965) [*C. A.* **64**, 8637g (1966)].

TABLE I. Relative Electrophoretic Mobilities* of Plant Gums and Mucilages over Whatman Glass Fiber Paper (38×12cm)

	solvent 1				solvent 2			
	GF 81 ^(a)		GF 83 ^(b)		GF 81 ^(c)		GF 83 ^(d)	
Gum Arabic	0.66**	0.47	0.65**	0.34	1.69		1.65	
Gum Tragacanth	0.81, 0.42**	0.64, 0.16	0.69, 0.33**	0.50, 0.19	1.33, 0.63	0.92**, 0	1.53, 0.84	1.12**, 0
Gum Karaya	0.76, 0.30	0.45, 0.15**	0.55, 0.15	0.28, 0.02**	1.12, 0.04**	0.55	1.60, 0.05**	1.21
Guar mucilage	0.59, 0.07	0.38**	0.73, 0.12	0.39**	0.61, 0.18	0.37**, 0.06	0.70, 0.26	0.47**, 0.07
Carob (Locust) mucilage	0.79**	0.56	0.96**, 0.31	0.71	0.65**	0.43	0.65**	0.47
Tamarind mucilage	0.88**	0.35	0.86**	0.36	0.80		0.90	

solvent 1, 0.1 N-NaOH : 0.025 M-Na₂B₄O₇·10H₂O (1 : 1), pH 12 ; 190 volt, 2hr. (The origin was at the center. All spots moved toward the cathode).

solvent 2, pyridine : HOAc : H₂O (8 : 18 : 474), pH 4.1 ; 380 volt, 2hr. (The origin was at a distance of 13cm from the cathode. All spots moved toward the anode).

* Ratio of movement of polysaccharide to movement of glucose. Distances moved by D-glucose were 6.1cm on (a), 6.4cm on (b), 4.9cm on (c) and (d).

** shows the main spot.

マトグラフィーを行なう方法⁴⁻⁸⁾, 鏡検法^{9,10)}, セルロース・アセテート電気泳動法¹¹⁾などが報告されている。

適当な支持体を用いて緩衝液中を泳動させたのち, 呈色試薬で検出して移動度を調べるゾーン電気泳動は, 各種の糖類の分離分析にも応用されており¹²⁻¹⁴⁾, 支持体としては汙紙が最も多く使われているが, 腐蝕性の検出試薬を使用できず, 過ヨウ素酸試薬の使用も妨害され易くて, 多糖類の分離の目的には適当ではない。著者は従来多糖類の均質性分析の目的に汙紙の他に, シリカゲル薄層¹⁵⁾およびキーゼルゲル薄層¹⁶⁾を支持体とする電気泳動を行なったが, 今回6種の植物ゴムおよび粘質物の定性分析に, ガラス繊維紙を支持体としホウ酸ナトリウム緩衝液およびピリジン-酢酸緩衝液を用いた電気泳動が良好な結果を与えることを認めた。ガラス繊維紙電気泳動はすでに数種の多糖類の分離に応用され¹⁷⁻¹⁹⁾, その優れた性質が知られている。TABLE I に示すように2種のガラス繊維紙の効果は似ているが, 相対移動値は多少変動するから標品と比較する方がよい。試料の希アルカリ溶液を検液とした電気泳動の結果は, 各試料とも多糖類混合物であることは明らかであるが, それぞれの主スポットの位置はかなり異なるので, 極少量の検液を使用して相互を明瞭に識別できる。ただし Guar と Carob 粘質物は主スポットと他のスポットの濃度差が少ないので, 混合試料中では区別は困難となる。

アラビアゴムは D-galactose, L-arabinose, L-rhamnose および D-glucuronic acid から成り²⁰⁾, 複雑な分枝構造

- E. Becker, M. Eder, *Z. Lebensm.-Untersuch.-Forsch.*, **104**, 187 (1956) [*C. A.*, **51**, 1493h (1957)].
- M. S. Stoll, M. Y. Prat, *Ann. Fals. Expert. Chim.*, **55**, 159 (1962) [*C. A.*, **57**, 16948f (1962)].
- P. Grau, A. Schweiger, *Z. Lebensm.-Untersuch.-Forsch.*, **119**, 210 (1963) [*C. A.*, **59**, 6904e (1963)].
- R. Grau, O. Fleischmann, A. Schweiger, *Fleischwirtschaft*, **15**, 295 (1963) [*C. A.*, **59**, 12089g (1963)].
- H. Sucker, *Deut. Apotheker-Ztg.*, **104**, 1254 (1964) [*C. A.*, **62**, 1514f (1965)].
- A. Th. Czaja, *Z. Lebensm.-Untersuch.-Forsch.*, **117**, 499 (1962) [*C. A.*, **57**, 17144f (1962)].
- 難波恒雄, 多田一郎, 高橋真太郎, *生薬*, **21**, 47 (1967).
- M. Padmoyo, A. Miserez, *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.*, **58**, 31 (1967) [*C. A.*, **67**, 89823z (1967)].
- A. B. Foster, *Adv. Carbohydr. Chem.*, **12**, 81 (1957).
- H. Weigel, *Adv. Carbohydr. Chem.*, **18**, 61 (1963).
- 三崎 旭, 蛋白質・核酸・酵素 (別冊)一生物化学実験法 XI, 60 (1968).
- M. Tomoda, M. Kitamura, *Chem. Pharm. Bull.*, **15**, 1021 (1967).
- 友田正司, 共立薬大研究年報, No. 14, 13 (1969).
- D. R. Briggs, E. F. Garner, F. Smith, *Nature*, **178**, 154 (1956).
- K. W. Fuller, D. H. Northcote, *Biochem. J.*, **64**, 657 (1956).
- B. A. Lewis, F. Smith, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 3929 (1957).
- C. L. Butler, L. H. Cretcher, *J. Am. Chem. Soc.*, **52**, 4509 (1930).

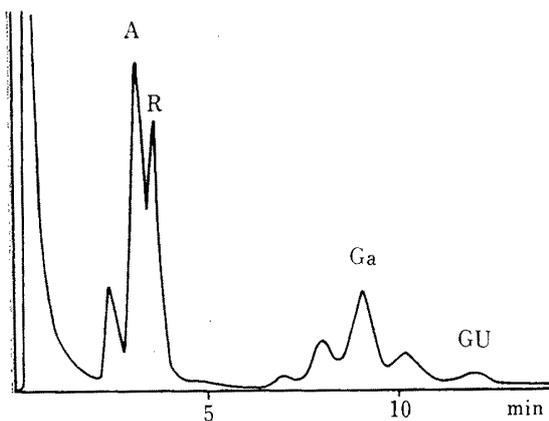


Fig. 1-1. Gum Arabic

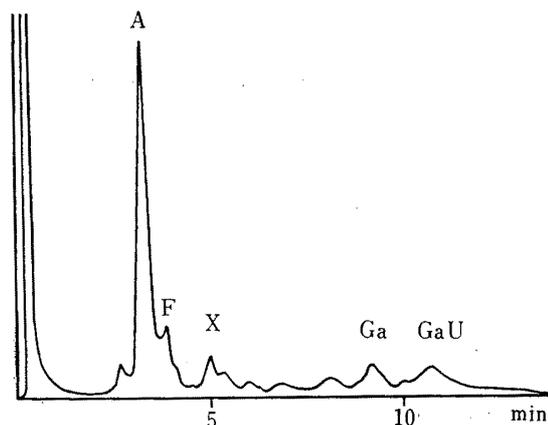


Fig. 1-2. Gum Tragacanth

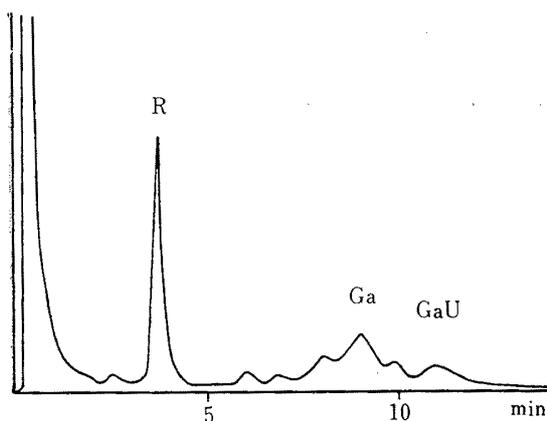


Fig. 1-3. Gum Karaya

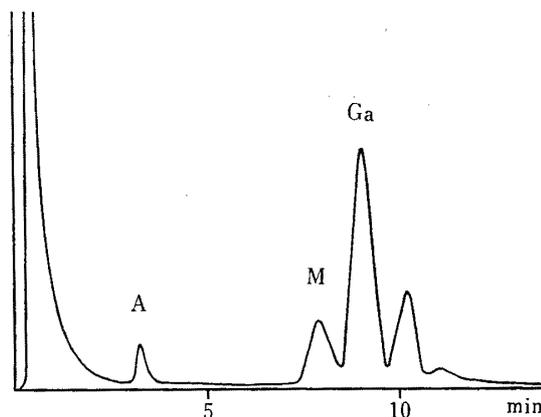


Fig. 1-4. Guar Mucilage

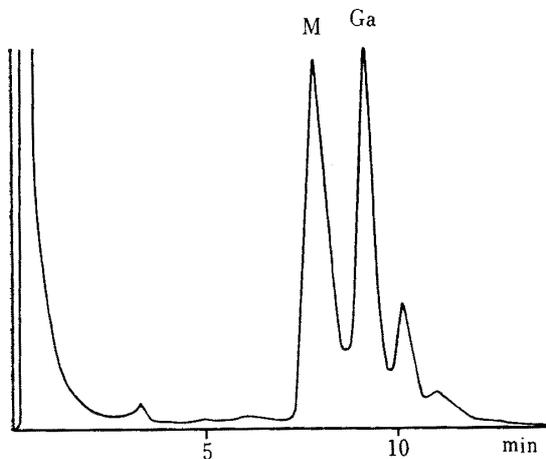


Fig. 1-5. Carob Mucilage
(Locust)

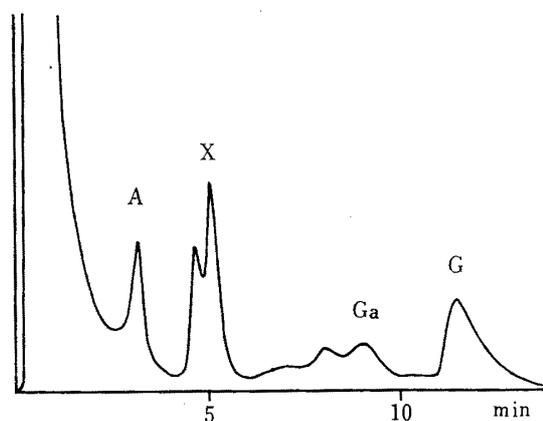


Fig. 1-6. Tamarind Mucilage

Fig. 1. Gas-Chromatogram of TMS Derivatives of Methanolizates of Plant Gums and Mucilages
(Abbreviations of TMS Methyl Glycosides)

A : L-arabinose, X : D-xylose, R : L-rhamnose, F : L-fucose, G : D-glucose, Ga : D-galactose,
M : D-mannose, GU : D-glucuronic acid, GaU : D-galacturonic acid

が推定されているが²¹⁾, アルカリ液中での電気泳動で2種の高糖類の混合物と認められた¹⁹⁾. トラガントは L-arabinose と D-galactose から成る中性多糖類と, D-xylose, L-fucose および D-galacturonic acid から成る分枝構造の酸性多糖類の混合物であるとされていたが²²⁾, L-arabinose, D-galactose, D-xylose および L-rhamnose から成

21) D.M.W. Anderson, E. Hirst, J.F. Stoddart, *J. Chem. Soc.*, **1966**, (C) 1959.

22) S.P. James, F. Smith, *J. Chem. Soc.*, **1945**, 739, 746, 749.

TABLE II. Retention Volume of TMS Methyl Glycosides of Standard Monosaccharides Relative to TMS Methyl α -D-Glucopyranose

L-arabinose	0.29*	D-galactose	0.69
	0.33		0.80*
L-rhamnose	0.24		0.89
	0.32*	D-glucose	1.00
L-fucose	0.34	D-galacturonic acid	0.53
D-xylose	0.41		0.60
	0.44*		0.93*
D-mannose	0.70	D-glucuronic acid	0.63
			1.06*

* shows the main peak

る分枝構造の中性多糖類などの分離も報告され²³⁾, 少量のグリコンド²²⁾とデンプン²⁴⁾も混在する. *C. gossypium* によるカラヤゴムは D-galactose, L-rhamnose および D-galacturonic acid から成り²⁵⁾, 痕跡量の D-tagatose もある. *S. urens* によるカラヤゴムは D-galactose, L-rhamnose, D-galacturonic acid および D-glucuronic acid から成る分枝構造である²⁶⁾. Guar 粘質物は D-mannose から成る主鎖に D-galactose が結合する分枝構造で構成糖量比は 2 : 1 である^{27,28)}. Carob seed 粘質物は Guar のそれに似た galactomannan が主体をなしているが, D-galactose 1 に対し D-mannose 約 5 の量比で存在する^{29,30)}. しかしながらアルカリ液中での電気泳動の結果によれば, Guar も Carob seed も粘質物は均質な多糖類ではない¹⁹⁾. Tamarind 粘質物の構成糖モル比は D-glucose : D-xylose : D-galactose (3 : 2 : 1) で³¹⁾, D-glucose 2 と D-xylose 1 で主鎖を構成する分枝構造である³²⁾.

このような各多糖類の構成糖の種類と量比の相違は, 加水分解後汚紙または薄層クロマトグラフィーを行なうよりもメタノリシス後トリメチルシリル (TMS) 化してガスクロマトグラフィーを行えば一層明確にあらわすことができると考えられ, 各試料について所期の結果を得て同定に利用し得ることを認めた. 数種の固定相液体を検討したが定温分析では SE 30 使用でよい結果が得られたので, Fig. 1 にクロマトグラムを示す.

このクロマトグラムに関係のある構成単糖類の TMS 化メチルグリコンドの TMS-methyl- α -D-glucopyranoside に対する相対保持容量を TABLE II に示す.

3種の種子粘質物からは文献既知の構成単糖類以外にいずれも L-arabinose が検出され, 共存多糖類の構成糖と考えられるが, その性質の解明は今後の研究にまたねばならない.

実 験 の 部

試料*2: アラビアゴムはスーダンより生で輸入, 製粉した白色粉末, トラガントはイランより生で輸入, 製粉した灰白色粉末, カラヤゴムはインドより生で輸入, 製粉した白色粉末, Guar 粘質物はインドより輸入した微黄灰色の粉末, Carob 粘質物はイタリアより輸入した微黄白色の粉末, Tamarind 粘質物はグリロイド 2A*3 を使用した.

電気泳動: 試料に 100 倍の 0.05N-NaOH を加えて混和, アラビアゴムとカラヤゴムは溶解, トラガントと Guar 粘質物は混濁液となるが沈殿を生ぜず, Carob および Tamarind 粘質物は沈殿を生じたので上清を検液とした. Whatman GF 81 または GF 83 (38×12cm) を緩衝液に手早く浸し, 同大の厚手の汚紙にはさんで液を吸いとった.

23) S. H. Lee, *J. Korean Agr. Chem. Soc.*, **3**, 25 (1962) [*C. A.*, **58**, 12656f (1963)].

24) C. O'Sullivan, *J. Chem. Soc.*, **79**, 1164 (1901).

25) E. L. Hirst, S. Dunstan, *J. Chem. Soc.*, **1953**, 2332.

26) G. O. Aspinall, Nasir-Ud-Din, *J. Chem. Soc.*, **1965**, 2710.

27) Z. F. Ahmed, R. L. Whistler, *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 2524 (1950).

28) C. M. Rafique, F. Smith, *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 4634 (1950).

29) F. Smith, *J. Am. Chem. Soc.*, **70**, 3249 (1948).

30) E. L. Hirst, J.K.N. Jones, *J. Chem. Soc.*, **1948**, 1278.

31) G. R. Savur, A. Sreenivasan, *J. Biol. Chem.*, **172**, 501 (1948).

32) E. V. White, P. S. Rao, *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 2617 (1953).

*2 輸入および製粉業者は三栄薬品貿易株式会社.

*3 大日本製薬株式会社の供試品.

のち水平の枠に保持して通電後, solvent 1 使用の場合は中央部 (両極液面から各 19cm) に, solvent 2 使用の場合は中央部から陰極側に 6cm の位置に, 検液約 1 μ l をスポットし, 冷却した密閉器中で 190 volt (solvent 1) または 380 volt (solvent 2) で 2hr 泳動.

検出: 熱風乾燥して溶媒除去後, *p*-アニシジン-硫酸試薬¹⁸⁾を噴霧し, 90~100° に数分間加熱して黄~褐色スポットとして検出. 酸性多糖類の植物ゴムは, トルイジンブルー試薬³³⁾によるメタクロマジーでも検出でき, 中性多糖類と区別できる.

メタノリシス: 試料 10mg に 1% HCl 含有メタノール 1ml を混和し, 封管中 100° で 4hr 加熱, Amberlite IR 4B (OH) を用いて中和し溶媒を減圧留去.

トリメチルシリル化: メタノリシス後得られた乾燥物をピリジン 1ml に溶解, hexamethyldisilazane 0.2ml および trimethylchlorosilane 0.1ml を加え振り混ぜ, 60~70° に 1~2min 加温後 10min 放置し, クロロホルム 3ml および水 3ml を加え振り混ぜ, 1,000~1,500r.p.m. で 1~2min 遠心し上層を捨て, 溶媒を減圧留去, 真空乾燥後クロロホルム 0.2ml に溶解, この液 1 μ l をガスクロマトグラフィーに使用.

ガスクロマトグラフィー: 日立ガスクロマトグラフ F6D を使用, キャリヤーガスは N₂, 流速 20ml/min, 使用カラムは径 3mm, 長さ 1m のステンレスU字管, 5% SE 30 on Chromosorb G (80~100 mesh), 180°.

謝辞 試料を御恵与下さった三国商店の永井吉澄氏および大日本製薬の原田忠明氏に深謝する.

33) K. G. Rienits, *Biochem. J.*, **53**, 79 (1953).