

原綿中の糖質の分析

長谷川 淳[®], 島崎長一郎^{*}, 竹内茂彌^{**}, 谷川里美,
中田 寿和, 作道 榮一, 宮本真敏^{*}

(1990 年 10 月 16 日受理)

7 種類の原綿中の糖質を新しい HPLC/TLC 法により分析し, 綿繊維を紡出する際, ローラー巻き付きによる品質低下を起こす主な糖質について調べた. 原綿を温水 (50°C) で抽出して得られた糖質試料の HPLC 分別物を, TLC で更に分離し定量した. グルコース, フルクトース, ガラクトース, キシロースとアラビノース (単糖類), スクロース, ツラノース, マルトースとイソマルトース (二糖類), ラフィノースとメレチトース (三糖類) が同定された. すべての原綿で, 単糖類>二糖類>三糖類の順に多く, それらの各成分は類似していた. 糖質の量は, ニカラグア>サンホアキン>テキサス>中央アジア>中国>パキスタン>オーストラリア原綿の順に多かった. ニカラグア及びサンホアキン原綿の紡出時に繊維切れなどのトラブルを起こす主な糖質は, グルコースとフルクトース (単糖類) 及びスクロースとマルトース (二糖類) であることが分かった.

1 緒 言

代表的な原綿にはセルロース (94.0%) のほかに, タンパク質 (1.3%), ペクチン質 (0.9%), 灰分 (1.2%), ワックス (0.6%), 有機酸 (0.8%) と糖質 (0.3%) が含まれている¹⁾. この糖質は, 綿花が作られる際に発生する転化糖と, 綿花につく昆虫の分泌物及び排せつ物に由来する¹⁾. 糖質が多い綿繊維を紡出する際, それが練糸機のローラーに巻き付き, スライバの乱れ及びスライバ切れが生じ, 品質低下や運転効率の低下が起きる. このトラブルは, 原綿中の糖質が吸湿し粘性が増大するためであると言われている¹⁾. この防止対策として, 紡出速度を低下させるか, 糖質の多い原綿の混綿率を下げるなどの消極的な対処しかされていなかった. 最近混打綿前に, 加熱蒸気処理をすることにより糖質を原綿全体に分散させるか²⁾, 油処理剤を噴霧する方法が提案されたが, 紡績工場では一般使用されるには至っていない. 綿繊維のローラー巻き付きによるトラブルを積極的に解決するためには, あらかじめ原綿中の糖を詳細に分析することが必要であるが, その研究は今まで行われていない.

本研究では, このトラブル解決の第一段階として, 世界の代表的な 7 種類の原綿に含まれる糖質を, HPLC と TLC を組み合わせる新分析法により詳細に分析した

^{*} 富山大学工学部: 930 富山県富山市五福 3190

^{**} 富山大学教育学部: 同上

ので報告する.

2 実 験

2・1 試 薬

12 種類の糖質 (Table 2) は, 和光純薬工業あるいは関東化学の市販特級あるいは一級品をそのまま用いた. TLC 分析には, シリカゲル 60 を塗布した TLC アルミプレート (Merck, No. 5553, 20×20 cm) を使用し, その前処理液, 展開液及び発色に用いる試薬 (2・4・3 記載) は, 和光純薬工業製特級品を用いた.

2・2 HPLC 測定条件

日本分光製 UVIDEK-100-III 紫外線検出器と示差屈折計 RID-300 を備えた日本分光製 880-PU 型 HPLC を用いた. 昭和電工製糖分析カラム Ionpak KS-801 (外径 8 mm×長さ 300 mm) にプレカラム Ionpak KS-800P を付け, 溶離液に水を用い, UV 波長 254 nm (0.4 ABU), RI $1/2 \times 10^{-5}$ RIU, カラム温度 50°C, 流量 1.0 ml/min でクロマトグラムを測定した. 各ピークの面積を島津製作所製クロマトパック C-R3A により測定した.

2・3 原綿中の糖質の抽出

Table 1 に記載した 7 種類の原綿 (約 10 g) に 300 ml の蒸留水を加え, 50°C で 4 時間加熱した. 汙液をロータリーエバポレーターで濃縮し, 続いてデシケー

Table 1 Extraction of saccharides in raw cotton

	San Joaquin (USA)	Nicaragua	Sinsiang (China)	Texas (USA)	Middle Asia (USSR)	Pakistan	Southeast Australia
Cotton (g)	10.08	10.00	10.00	10.00	10.03	10.00	10.14
Extract (g)	0.510	0.373	0.196	0.191	0.135	0.065	0.036

Method : extraction with water at 50°C for 4h

ター中で減圧乾燥して、茶褐色の固体試料を得た。この抽出操作をもう一度繰り返すと、少量の固体試料が得られた。

2・4 糖質の分析法

2・4・1 HPLC 検量線 12 種類の糖 (Table 2) の 0.001%, 0.01%, 0.1% 及び 1% 標準水溶液を調製した。それらの 8 μ l を HPLC に注入し、両対数方眼紙の横軸に濃度、縦軸に RI 検出器で測定した面積をプロットし、各糖質の検量線を作製した。

2・4・2 HPLC 分析 抽出物の 2% 水溶液 8 μ l を HPLC 測定し、各ピークの相当画分を分取した。この分取操作を 10~20 回繰り返し、ピークごとに溶出液を試験管にまとめた。HPLC 各ピークに含まれる原綿中の全糖質の濃度 (W_i , %) を式(1)から求めた。

$$W_i(\%) = \frac{C \times \frac{100}{2} w}{W} \quad (1)$$

ここで、 C : 検量線から求めた糖質の濃度(%), W : 原綿の重量(g), w : 抽出物の重量(g)を表す。

2・4・3 HPLC/TLC 分析 HPLC 各分取物をロータリーエバポレーターで濃縮し、続いてデシケーター中で減圧乾燥した。それらに 5 μ l ずつ蒸留水を加えて得られた水溶液を TLC 試料とした。Hansen²⁾の方法により、リン酸二水素ナトリウムで前処理した TLC プレーットの左半分に、12 種類の糖質標準液 (0.2%) を 1 μ l ずつスポットし、続いて TLC プレーットの右半分に各ピークより得た TLC 試料溶液を 5 μ l ずつスポットした。Hansen²⁾の方法に従って、TLC プレーット上の試料を 2-プロパノール: アセトン: 0.1 M 乳酸 (4: 4: 2, v/v) の混合溶液で展開した。ジフェニルアミン 4g をアニリン: アセトン: 80% リン酸 (4: 200: 30, v/v) に溶かした混合試薬を噴霧し、105°C で 30 分間加熱すると、糖質が特有の着色スポットとして検出された。

3 結果と考察

3・1 原綿中の糖質の抽出

7 種類の原綿中の糖質を 2・3 により抽出し、結果を

Table 1 に示した。抽出物量は原綿の産地により大きな差が見られた。2・3 による抽出率を、サンホアキン原綿 23.00 g を 300 ml の沸騰水で抽出後、共溶出したワックスをヘキサンで抽出除去する方法と比較検討した。サンホアキン原綿の 1 回抽出率は 2・3 は 95% であり、ヘキサン処理法は 96% であった。又、両抽出物の HPLC クロマトグラムはほとんど一致していたので、他の 6 種類の原綿については、2・3 による 1 回抽出だけを行った。抽出液の pH は 4.2 から 5.5 の範囲にあり、抽出に使用した蒸留水の pH 5.9 より酸性になったが、この pH 範囲では HPLC 測定により二糖類と三糖類 (Table 2) 及びセルロースから単糖類が生成しないことから、加熱抽出時に原綿中の糖質は加水分解しなかったと結論できる。

3・2 標準糖質の HPLC 保持時間と TLC の R_f 値

12 種類の糖質の HPLC 保持時間 (R_t), TLC の R_f 値と発色試薬によるスポットの発色を Table 2 に示した。 R_t 値から、KS-801 カラムではサイズ分離モード

Table 2 R_t and R_f values of mono-, di- and trisaccharides

Saccharide	HPLC R_t /min	TLC	
		R_f value	Color
Trisaccharide			
Raffinose	5.9	0.11	blue
Melezitose	5.9	0.29	violet
Disaccharide			
Sucrose	6.7	0.38	violet
Turanose	6.7	0.41	violet
Maltose	6.7	0.29	blue
Isomaltose	6.7	0.15	blue
Monosaccharide			
Glucose	7.9	0.37	blue
Galactose	8.5	0.27	blue
Xylose	8.5	0.60	violet
Fructose	8.8	0.43	red
Fucose	9.1	0.63	green
Arabinose	9.4	0.43	violet

により糖質が分離されていることが分かる. 単糖類のガラクトースとキシロースは共溶出するが, 他の単糖類は分離した. しかし, 二糖類内及び三糖類内の糖質は分離しなかった.

R_f 値の比較から, TLC 法だけでは糖質を完全に分離できないが, HPLC で共溶出する糖質は TLC では分離でき, 更にスポットの発色により同定が容易になった. 従って, HPLC と TLC 法を組み合わせる新しい方法により, 原綿中の糖質の分離分析が可能になる.

3・3 抽出物の HPLC 分析

Fig. 1 にサンホアキン原綿抽出物と標準糖質の HPLC クロマトグラムを示した. 標準糖質との R_t の比較から, 紫外線吸収 ($\lambda=254$ nm) を示さないピーク No. 1 を三糖類, No. 2 を二糖類, No. 4 から 6 を単糖類と確認した. しかし, 各ピークには同一保持時間に溶出する糖質が重なっているものと推定された. 最大ピーク a には, 温水 (50°C) で溶出したセルロースが含まれていることが標準品との R_t の一致から分かった. しかし, その量及びピーク a, b と c に含まれる化合物の構造については不明である.

2・4・1 に記載した方法で作製した 12 種類の糖の検量

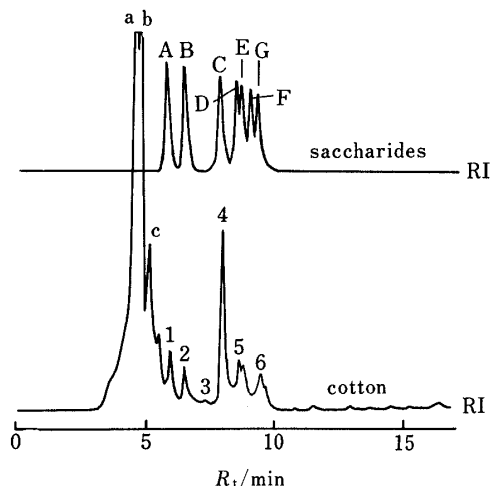


Fig. 1 HPLC chromatograms of the extract of San Joaquin raw cotton and standard saccharides

Peaks—1: trisaccharide; 2: disaccharide; 3: unknown; 4~6: monosaccharide; a: cellulose + unknown; b and c: unknown. Peaks—A: raffinose, melezitose; B: sucrose, turanose, maltose, isomaltose; C: glucose; D: galactose, xylose; E: fructose; F: fucose; G: arabinose. See experimental 2・2 for HPLC conditions.

Table 3 Saccharides in San Joaquin cotton identified by HPLC/TLC method

HPLC peak No.	R_t /min	W_t , % ^{a)}	TLC R_f	W_i , % ^{b)}	
1	5.9	0.08	0.13	0.02	Raf
			0.28	0.04	Mel
			0.22	0.02	
2	6.7	0.06	0.38	0.02	Suc
			0.42	0.02	Tur
			0.27	0.01	Mal
			0.14	0.01	Iso
			0.20	0.00	
3	7.0	0.00	0.25	0.00	
			0.16	0.00	
4	7.9	0.26	0.37	0.26	Glu
5	8.5	0.16	0.41	0.09	Fru
			0.26	0.03	Gal
			0.57	0.02	Xyl
			0.22	0.02	
6	9.4	0.08	0.41	0.08	Ara
Total		0.64		0.64	

a) weight % of total saccharides (t) involved in each HPLC peak {Eq. (1)}; b) weight % of total saccharides (i) determined by HPLC/TLC method {Eq. (2)}. Saccharides — Raf: raffinose; Mel: melezitose; Suc: sucrose; Tur: turanose; Mal: maltose; Iso: isomaltose; Glu: glucose; Fru: fructose; Gal: galactose; Xyl: xylose; Ara: arabinose

線はすべて良い直線関係を示し, いずれの検量線もほとんど重なるような一本の直線と見なせた. サンホアキン原綿抽出物 HPLC クロマトグラムのピーク No. 1 から 6 の分取物に含まれる糖質の原綿中の濃度を式(1)から求め, Table 3 に結果を示した.

3・4 HPLC 分取物の TLC 分析(HPLC/TLC 分析)

HPLC ピーク No. 1 から 6 の分取物に含まれる糖質を, 更に TLC により分離分析し, その TLC クロマトグラムを Fig. 2 に示した. TLC スポットの R_f 値 (Table 3) と発色が, 糖質標準物 (a~l) の R_f 値と発色 (Table 2) にそれぞれ一致することから, 各 HPLC 分取物中には Table 3 に記載した糖質が含まれていることが分かった. この HPLC/TLC 法はそれらの分離モードが異なるので, HPLC で共溶出する糖質も分離することができた.

Fig. 2 に示した標準糖質の重量 (2 μ g) 当たりのスポット面積 (cm^2) を考慮した面積法により, HPLC 分取物 (No. 1~6) の TLC スポット中に含まれる糖質の定

量を試み、式(2)により原綿中の糖質(i)の濃度($W_i\%$)を求めた。

$$W_i(\%) = \frac{C \times \frac{100}{2} w \times \frac{A_i/S_i}{\sum(A_i/S_i)}}{W} \quad (2)$$

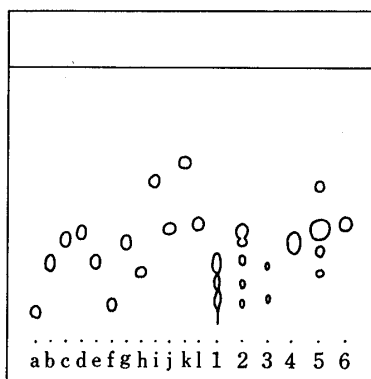


Fig. 2 TLC chromatograms of standard saccharides (a~l) and HPLC fractions of San Joaquin raw cotton (peak No. 1~6)

a: raffinose; b: melezitose; c: sucrose; d: turanose; e: maltose; f: isomaltose; g: glucose; h: galactose; i: xylose; j: fructose; k: fucose; l: arabinose

ここで、 A_i : 糖(i)のTLCスポット面積(cm^2), S_i : グルコース $1\mu\text{g}$ のTLCスポット面積を1としたとき、それと標準糖質(i) $1\mu\text{g}$ のTLCスポット面積との比($\text{cm}^2/\mu\text{g}$), $C \times 100/2 \times w$: 各HPLC分取物に含まれる全糖質の抽出物中の重量%, W : 原綿中の重量(g)を表す。

しかし、濃度の大きな小さなスポットと濃度の小さな大きなスポットがある可能性及び定性できない糖質があることを考慮すると、Table 3に記載したHPLC/TLC法による測定結果は、半定量値である。

3.5 原綿の産地別による糖質含有率分布

Table 4に、7種類の原綿中の糖質の分析結果を示した。糖質の総含有率は、ニカラグア>サンホアキン>テキサス>中央アジア>中国>パキスタン>オーストラリア原綿の順であり、産地により大きな差異があった。又どの原綿中の糖質も、単糖類>二糖類>三糖類の順に多く、それらの中の糖質成分はほとんど同一であった。

糖質含有量の多い原綿ほど、昆虫の分泌物が黒褐色のはん点状に多く付着していた。綿花が作られる際に発生する転化糖を含む糖質の量を、黒褐色はん点がほとんど

Table 4 Saccharides in raw cottons identified by HPLC/TLC method

Saccharides	$W_i\%$						
	Nicaragua	San Joaquin (USA)	Texas (USA)	Middle Asia (USSR)	Sinsiang (China)	Pakistan	Southeast Australia
Raffinose	0.02	0.02					
Melezitose	0.03	0.04					
	0.01	0.02					
Trisaccharide	0.06	0.08	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
Sucrose	0.07	0.02					
Turanose	0.04	0.02					
Maltose	0.12	0.01					
Isomaltose	0.07	0.01					
	0.09	0.00					
Disaccharide	0.39	0.06	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00
Glucose	0.37	0.26	0.13	0.07	0.01	0.01	0.01
Fructose	0.12	0.09	0.04	0.03	0.04	0.01	0.00
Galactose	0.14	0.03	0.02	0.01	0.03	0.01	0.00
Xylose	0.02	0.02	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00
Arabinose	0.01	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.06	0.02	0.05	0.02	0.03	0.01	0.01
Monosaccharide	0.72	0.50	0.25	0.14	0.11	0.04	0.02
Total	1.17	0.64	0.26	0.16	0.12	0.04	0.02

認められないオーストラリア原綿の場合の 0.02% と見積もると, 糖質含有量の多い他の原綿中の糖質はほとんど昆虫の分泌物と排せつ物に由来すると考えられる. 綿花に飛来する昆虫としては, アブラムシ (*aphids*) や白ばえ (*white flies*) などがいるが, それらの昆虫の大きさ, 種類及び数が原綿産地により異なるために, 原綿中の糖含有率が 53 倍 (ニカラグア原綿/オーストラリア原綿) も違ったものと思われる. 昆虫の体液 (血液, 血リンパ液, 体こう液) 中には, グルコースとトレハロースが主で, 他にスクロースとフルクトースもときに含まれ³⁾, 又昆虫 (アリマキ, シャクトリムシ) の分泌物中にはメレチトースとエルロースが含まれるという報告があるが⁴⁾, 昆虫分泌物と排せつ物の詳細な分析法は今までに見当たらない. 昆虫は植物の花や茎からの分泌物及び果実を摂取していることを考えれば, この産地の原綿中にも類似した糖質成分が含まれるのは十分考えられることである.

3・6 紡出時に繊維切れなどのトラブルを引き起こす主な糖質

7 種類の原綿のトラブル発生率を紡出時の温度, 湿度などの環境条件を一定にして測定するのは, 実際上困難である. しかし, 紡出時のトラブル発生回数の高いニカラグアとサンホアキン原綿中の糖質含有率は特に高く, それらの中の主なトラブル原因物質は, 単糖類ではグルコースとフルクトース, 二糖類ではスクロースとマルトースであると結論することができる.

最後に, 原綿の提供を頂いた日清紡(株)富山工場の関係者の方々に感謝する.

(1990 年 10 月, 第 39 回高分子学会)
(北陸支部講演会において一部発表)

文 献

- 1) 東洋紡績: 日特公 (A), 昭和 63-12,724 (1988.1.20).
- 2) S. A. Hansen: *J. Chromatogr.*, **107**, 224 (1975).
- 3) “生化学データブック I”, 日本生化学会編, pp. 1863~1865 (1985), (東京化学同人).
- 4) “生化学データブック I”, 日本生化学会編, pp. 470, 471 (1985), (東京化学同人).



Determination of saccharides in raw cottons. Kiyoshi HASEGAWA, Choichiro SHIMASAKI*, Sigeya TAKEUCHI**, Satomi TANIGAWA, Hisakazu NAKADA, Eiichi TSUKURIMICHI and Masatoshi MIYAMOTO* (*Faculty of Engineering, Toyama University; **Faculty of Education, Toyama University, Gofuku, Toyama-shi, Toyama 930)

Saccharides in raw cotton absorb moisture from the air and form adhesives. Adhesive saccharides cause the cotton fiber to be wound on the roller which lowers the quality of the cotton. As the first step to resolve the winding, saccharides in seven raw cottons were determined in detail by a new HPLC/TLC method. The main saccharides which may cause the winding were investigated. Seven raw cottons were extracted with water at 50°C. The saccharides extracted were determined by TLC after HPLC fractionation. Monosaccharide (glucose, fructose, galactose, xylose and arabinose) disaccharide (sucrose, turanose, maltose and isomaltose) and trisaccharide (raffinose and melezitose) were determined. In all the raw cottons, saccharides increased in order of mono->di->trisaccharides and each component of them was very similar. The amounts of saccharides were exceedingly different among the cotton from the different raw cotton-growing districts. Increased amounts of saccharides were determined as follows: Nicaragua>San Joaquin (USA)>Texas (USA)>Central Asia (USSR)>Sinsiang (China)>Pakistan>Australia. The main saccharides which caused problems in the spinning of Nicaragua and San Joaquin cottons were found to be glucose and fructose (monosaccharide), and sucrose and maltose (disaccharide).

(Received October 16, 1990)

Keyword phrases

saccharide in raw cotton; HPLC/TLC analysis of saccharide; secretion of insect; trouble by winding of cotton fiber.