

ノート

ガスクロマトグラフィーによる朝鮮にんじん 及びその製品中の糖成分の定量

宮崎千秋*

1 緒 言

輸入される食品、飼料等は、添加されている糖の種類により、しばしばその関税率表の適用を異にし、多くの場合、しょ糖の定量が必要である。しかし農水産物中には数種の糖が共存しているのが普通であり、単独で存在することは極めて少ない。

朝鮮にんじん (Panax Ginseng C. A. Meyer) 中には、ぶどう糖、果糖、しょ糖、麦芽糖、三糖類及びその他の多糖類が存在しており、^{1)~3)} また糖成分を異にする配糖体十数種が存在し、⁴⁾ 通常の化学分析による糖の定量を困難にしている。

朝鮮にんじんに関する研究は古くから行われてあり多数の報告^{5)~9)} があるが、糖の定量に関しては、瀧浦ら¹⁾ がカラムクロマトグラフィーにより、二糖類（しょ糖及び麦芽糖）3.3%，単糖類（ぶどう糖、果糖）1.5%，三糖類以上の多糖は1%以下であると報告しているほか、C. Y. Lee ら³⁾ は、しょ糖8.53%、ぶどう糖0.97%、果糖0.50%であると報告しているにすぎない。

以上のように数種の糖が混在する場合、酵素法^{10)~13)} 又はカラムクロマトグラフィー及び液体クロマトグラフィーによる定量法が有効である。しかし朝鮮にんじんの場合、インペルターゼやマリターゼにより果糖やぶどう糖を生ずる三糖類が、しょ糖や麦芽糖と共存しており^{14)~15)} 酵素による定量は有効な手段となり得ない。

一方、近時、糖類の各種誘導体のガスクロマトグラフィー(GLC)による分離法が発表され^{16)~19)}、定量分析が可能となった。

そこで今回は朝鮮にんじん中の果糖、ぶどう糖、しょ糖及び麦芽糖を、またその製品中の各種の糖類をトリメチルシリル (TMS) 誘導体とし、GLC により分離、定量する方法について検討したので報告する。

2 実験方法

2・1 試薬及び試料

糖類：_D キシロース、_D アラビノース、果糖、ぶどう糖、しょ糖、乳糖、乳糖、麦芽糖及び、_D フェニルグルコシド、いずれも試薬特級
ヘキサメチルジシラサン (HMDS)：キシダ化学
トリフルオロ酢酸 (TFAA)：東京化成工業
ピリジン：試薬特級で水酸化カリウム粒を入れ、脱水したもの
試料：高麗白參 (3年生乾燥根) 及び朝鮮にんじん茶 (ぶどう糖のみによって調製されたもの3種、乳糖のみ によって調製されたもの4種、乳糖及びぶどう糖のほか、少量のしょ糖を含むもの1種)

2・2 TMS化

糖類 10~20mg を 0.1ml ピリジンに溶解し、HMDS、0.1ml 及び TFAA 0.01ml を加え、30 秒間はげしく振とうし、30 分間放置する。もし液が混濁していたり、糖が完全に溶解していない場合は、60 中の湯浴中に 5~10 分間保つ。

2・3 G C L の条件

装置：島津 GC - 5 A
Column : Stainless steel , 2mx3mm i.d.
Column packing : 3 % SE 52 on 60 - 80 mesh Chromosorb W AW
Column temp.: 120-280 (Programming 4 / min)
Detector : FID
Injection temp. : 280
Carrier gas : He , 40ml / min
Detector temp. : 300
試料は 2・2 により調製したものを 0.5 μ l~1.0 μ l 注入した。

ほかに SE30, DEGS を使用したが、DEGS は单糖類間の分離は非常に良好であるが、二糖類以上の分離は不可能であった。また SE30 は果糖のアノマーと思われるピークがショルダーとなって現われ、面積法による

* 門司税關輸入部 北九州市門司区西海岸1-3-10

本定量法では大きな測定誤差の原因となるので、これが現れない SE52 を使用した。

またガラスカラムとステンレスカラムの分離状態の差はみとめられなかったので今回は SE52 を液相とした充てん剤をステンレスカラムにつめたものを使用した。

2・4 定量操作

試料は水溶液の一定量(総糖量として 0.1~3mg を含む。)を減圧デシケーター中に乾燥し、内部標準物質として ^D フェニルグルコシドを 0.2mg 含むピリジン 0.1ml を加え 2・2 で述べた方法により TMS 化したものを、0.5~1.0 μl ガスクロマトグラフに注入した。得られた内部標準物質及び各糖の TMS 化誘導体のピーク面積比を半幅幅去で求め、この面積比から検量線により重量比を求めた。

試料中に含まれる糖の含有量は次式により計算する。

$$S (\%) = \frac{R \times Iw \times a}{Sw \times b \times 10}$$

ここに R : 検量線により求めた ^D フェニルグルコシドと各糖の重量比

Iw : ^D フェニルグルコシドの添加量 (mg)
ここでは 0.2mg

Sw : 試料の採取量 (g)

a : 試料を溶解、定容した量 (ml)

b : 試料溶液からの採取量 (ml)

S (%) : 試料中の糖の重量%

3 結果及び考察

3・1 標準糖の TMS 誘導体のガスクロマトグラム

SE52 による各糖の TMS 誘導体の分離状態を Fig.1 に示す。単糖類の分離は良好であるが、二糖類において、しょ糖のピークと 乳糖のピークの分離が困難である。今回使用した充てん剤では GLC の条件を変えて両者の分離は不可能であった。従って乳糖としょ糖が同時に混在する試料については、直接両者を定量することはできない。

一方、反応条件その他を一定に保てばアノマーの生成比は一定であることから乳糖の水溶液を室温で乾燥後 TMS 誘導体とし、そのガスクロマトグラム上の 乳糖のピーク面積から アノマーに相当するピーク面積を求め、この面積をしょ糖と 乳糖からなるピーク面積から減じ、しょ糖及び乳糖の同時定量が可能であることが後述 3・4 の結果により明らかとなった。

3・2 にんじんの水抽出物のガスクロマトグラム

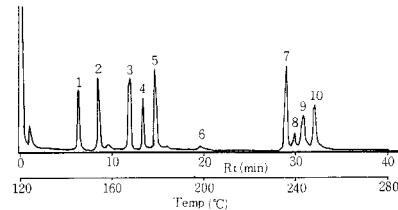


Fig.1 Gas-liquid chromatogram of sugar TMS derivatives on 3% SE 52

1 : ^D arabinose, 2 : ^D xylose
3 : fructose, 4 : galactose, 5 : glucose, 6 : glucose, 7 : sucrose + lactose, 8 : maltose,
9 : maltose, 10 : 1-acetose

朝鮮にんじんを水で抽出し、遠心分離後上澄液を一部とり、デシケーター中に乾燥後 TMS 化したもの及び抽出液を 1 規定硫酸で 5 時間約 100 ℃ に保って加水分解後同様に TMS 化したもののガスクロマトグラムを Fig.2

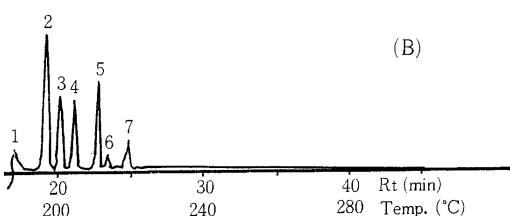
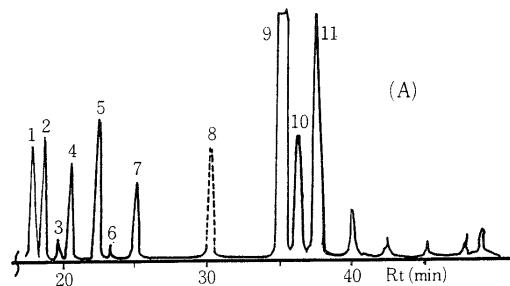


Fig.2 Gas-liquid chromatograms of TMS derivatives of ginseng water extract(A) and its hydrolysate(B) on 5% SE 30

1 : unknown, 2 : fructose, 3 : galactose,
4 : glucose, 5 : glucose, 6 : galactose,
7 : unknown, 8 : phe-glucoside, 9 : sucrose, 10 : maltose, 11 : maltose

示した。

Fig.2 から、にんじんの水抽出物中の糖成分は遊離糖として、しょ糖を最も多く含み、麦芽糖、ぶどう糖、果糖及びガラクトースを含有するほか、三糖類と思われるピークが検出された。

3・3 サポニンの影響

藤田ら⁶⁾の方法により朝鮮にんじんから調製した粗サポニン (PPC 及び TLC によりしょ糖、果糖、ぶどう糖及び麦芽糖の存在が確認された。) を 2・2 の方法で TMS 化したもの及び粗サポニンを 1 規定硫酸と湯浴中で 30 分間保った後、同様の操作を行ったもののガスクロマトグラムを Fig.3 に示す。粗サポニンの主要なピークは、果糖、ぶどう糖、しょ糖及び麦芽糖のピークと一致し、これらのピークのうち、しょ糖及び麦芽糖に相当するピークは、おだやかな加水分解条件で消失し、果糖及びぶどう糖に相当するピークが得られる。もしこれらのピークがサポニン等の配糖体であれば、分解により Rt の小さな方へ移動するはずであるが、それらのピークは認められない。

サポニン配糖体については研究が進んでおり⁷⁾⁻⁹⁾ それによると、アグリコンはパナキサジオール (トリテルペンの一種) であるといわれてあり、糖部分は、ぶどう糖 3mol のもの、ぶどう糖 2 mol + ラムノース 1 mol のもの、

ぶどう糖 4 mol + アラビノース 1 mol のもの等が報告されており、これらは本条件では、ピークとして現れてこないと考えられる。

3・4 検量線

ぶどう糖、果糖、しょ糖、麦芽糖及び乳糖それぞれ 1 ml 中、0.5mg から 3.0mg 含有する標準混合糖液を作り、これから各 0.2ml を正確にバイアルにとったのち、2・4 の方法で得られたガスクロマトグラムから D フェニルグルコシドと各糖の面積比を求め、重量比と面積比の関係から検量線を作成する。5 回の繰り返し測定の結果について回帰分析した結果を Table 1 に示す。ただし、ぶどう糖及び麦芽糖は、それぞれの糖のアノマーのピーク面積を加算して求め、乳糖はアノマーのピーク面積により求めた。また、しょ糖の面積は乳糖のピーク面積に、本条件での乳糖の乳糖に対する比である 0.29 を乗じたものを乳糖のピーク面積として、しょ糖と乳糖からなるピーク面積からこれを減じて求めた。

乳糖における / 比 0.29 は、9 回繰り返し分析した結果によるもので $\bar{x} : 0.729$ に対し、標準偏差 : 0.0294、変動係数 : 3.9% であった。

Table 1 からわかるように、回帰からの推定誤差 (偏差) は各濃度によってばらつきがあるが大きくはなく、回帰直線はほとんど原点を通り、面積比と重量比との間に直線関係が認められた。

標準糖液により 5 回繰り返し実験を行った結果、果糖の変動係数は 4.8% 以下、ぶどう糖は 5.0% 以下、麦芽糖は 5.06% 以下、乳糖は 6.2% 以下、乳糖としょ糖が混在する場合のしょ糖の変動係数は 6.9% 以下であり、しょ糖のみに由つた場合の 5.5% 以下より高く、しょ糖と乳糖が混在しない場合は後者の検量線によった。

3・5 応用例

本法を実際に輸入された試料に応用した結果を Table 2 に示す。試料 1~7 はレイン・エイノン法で、8 は液体クロマトグラフィーで分析した結果を付記した。レイン・エイノン法が本法より高い結果が得られているのは、にんじんエキス中の配糖体その他還元性を有する夾雜物が還元糖として算出されるためと考えられる。

またにんじんについては、瀧浦ら¹⁾が長野産白参を水で抽出し活性炭カラムクロマトグラフィーにより分離した結果二糖類を 3.3%、単糖を 1.5% 検出しており、これにほぼ近い値が得られた。

4 要 約

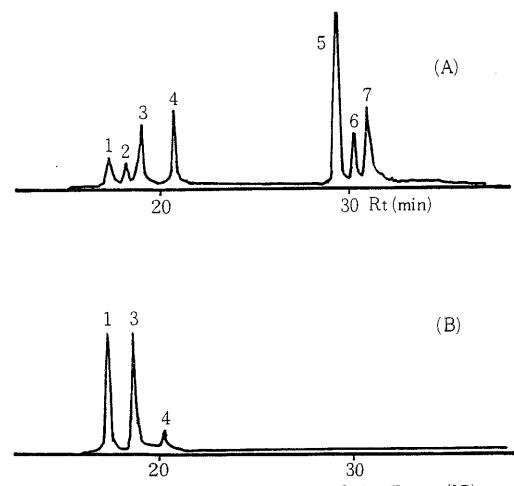


Fig.3 Gas-liquid chromatograms of crude saponin
(A) and its hydrolysate (B)

1: fructose, 2: glucose, 3:

glucose, 4: unknown, 5: sucrose

6: maltose, 7: maltose

Table 1 Regression for results

	X	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
A	Y	0.441	1.002	1.550	2.155	2.645	3.220
	\hat{Y}	0.531	1.061	1.592	2.122	2.613	3.183
	dyx	-0.090	-0.059	-0.042	0.033	0.032	0.037
B	Y	0.672	1.373	2.139	2.861	3.568	4.396
	\hat{Y}	0.719	1.438	2.157	2.876	3.595	4.314
	dyx	-0.092	-0.065	-0.088	-0.015	-0.027	0.082
C	Y	0.567	1.049	1.613	2.065	2.637	3.296
	\hat{Y}	0.537	1.070	1.605	2.140	2.675	3.120
	dyx	0.032	-0.021	0.008	-0.075	-0.088	0.176
D	Y	0.416	0.841	1.345	1.819	2.252	2.791
	\hat{Y}	0.455	0.910	1.365	1.820	2.275	2.730
	dyx	-0.039	-0.069	-0.020	-0.001	-0.023	0.061
E	Y	0.245	0.553	0.878	1.179	1.507	1.858
	\hat{Y}	0.301	0.612	0.903	1.204	1.505	1.806
	dyx	-0.056	-0.039	-0.025	0.025	0.002	0.052
F	Y	0.595	0.169	1.576	2.156	3.080	3.290
	\hat{Y}	0.543	0.186	1.629	2.172	3.072	3.258
	dyx	-0.032	0.017	-0.057	-0.022	0.008	0.032

A : fructose , B : glucose , C : sucrose (calculated using - lactose peak area)

D : maltose , E : lactose (calculated by - lactose) F : sucrose , X : amount ratio of

each sugar / - D - phenylglucoside , Y : peak area ratio of each sugar / - D - phenyl-

glucoside , \hat{Y} : estimate of peak area ratio from X , $\hat{Y} = bX$, (b : regression

coefficient) dyx : deviation from regression.

Table 2 Sugar content of ginseng tea and ginseng root

Sample No.	Sugar content (%)	
	by G. L. C.	by others
Ginseng tea		
1	glucose	85.7
2	"	90.5
3	"	92.1
4	lactose	92.6
5	"	91.0
6	"	92.9
7	"	92.5
8	glucose	41.9
	lactose	47.9
	sucrose	5.7
Ginseng root		
1	fructose	0.48
	glucose	0.58
	sucrose	4.95
	maltose	1.29
2	fructose	0.52
	glucose	0.67
	sucrose	4.41
	maltose	1.34

GLC により朝鮮にんじん及びその製品中の糖成分の定量を検討し、次の結果が得られた。

朝鮮にんじんのように多種の糖類を含有する植物性生産品中の糖の定量は、TMS 誘導体とし、GLC により迅速に行うことができた。糖度は、変動係数として 6.9% 以下であった。

しょ糖と 乳糖の分離が本条件では困難であったため反応条件を一定にして得られるガスクロマトグラム上の乳糖の アノマーに対する アノマーの比を求め、この値を用いてしょ糖の定量を行うことができた。しかしながら、精度はしょ糖のみのピークから直接求める方が良く、さらに検討を加える必要がある。

おわりに、本実験に当たり有益なご教示、ご指導をいただいた、水産大学校の武田教授、田川助教授及び富田教官並びにガスクロマトグラフの使用に当たって終始ご便宜をいただいた河内助教授に感謝する。

文 献

- 1)瀧浦潔, 中川一郎: 薬学雑誌, **83**, 298(1962).
- 2)F . Gstiner , W . Braun : *Acta . Pharm .* , **296** , 384(1963) , *Chem . Abstr .* , **59** , 8543(1963) .
- 3)C . Y . Lee , T . Y . Lee : *Symb . phytochem . Proc . Meeting Univ . Hong Kong* , 1961 , 171(Pub . 1964) , *Chem . Abstr .* , **61** , 15040(1964) .
- 4)難波恒雄, 吉崎正雄, 富森毅, 小橋恭一, 三井健一郎, 長谷純一: 薬学雑誌, **94** , 252(1974) .
- 5)S . Shibata , M . Fujita , H . Itokawa : *Tetrahedron Letters* , **1962**(10) , 419 .
- 6)藤田路- , 糸川秀治, 柴田承二: 薬学雑誌, **82** , 1634(1962) .
- 7)S . Shibata , O . Tanaka , M . Nagai , T . Ishii : *Tetrahedron Letters* , **1962**(26) . 1239 .
- 8)S . Shibata , O . Tanaka , M . Sado , S . Tsuima : *ibid .* , **1963**(12) , 795 .
- 9)S . Shibata , O . Tanaka , K . Soma , Y . Iida , T . Ando , H . N . Nakamura : *ibid .* , **1965**(3) , 207 .
- 10)福井作蔵:“還元糖の定量法”, P . 135 , 東京大学出版会(1969) .
- 11)出来三男, 吉村実:本誌, **1** , 1(1965) .
- 12)出来三男, 吉村実: *ibid .* , **2** , 15(1966) .
- 13)出来三男, 佐藤宗衛, 斎藤普: *ibid .* , **12** , 19(1972) .
- 14)瀧浦潔, 中川一郎: 薬学雑誌, **83** , 301(1962) .
- 15)瀧浦潔, 中川一郎: *ibid .* , **83** , 305(1962) .
- 17)C . T . Bishop : “Method of Biochemical Analysis” Vol . 10 , 1 , Interscience Publishers Inc ; New York(1962) .
- 18)C . H . Boton , J . R . Clamp , g . Dawson , L . Hough : *Carbohydrate Research* , **1** , 333(1965) .
- 19)C . G . Sweely , B . Walker : *Anal . Chem .* , **36** , 1461(1964) .

Quantitative Determination of Sugars in Panax Ginseng and Its Products by Gas-Liquid Chromatography

Chiaki MIYAZAKI

Moji Customs , Import Division , 1-3-10,Nishikaigan , Moji-ku , Kitakyusyu-shi , Fukuoka-ken , Japan

Received Sep. , 14 , 1974