

シバの葉緑素およびキシロースの利用 に関する研究

柴沼忠三・石井 弘・矢下芳克・高橋嘉典・大村隆秀
(生物化学研究室)

Studies on the Utilization of Chlorophylls and Xyloses in Lawn Grasses

CHUZŌ SHIBANUMA, HIROSHI ISHII, YOSHIKATSU YANOSHITA,
YOSHISUKE TAKAHASHI and TAKAHIDE ŌMURA
Laboratory of Biological Chemistry

Abstract

Studies on the Utilization of Chlorophylls and Xyloses in Lawn Grasses. C. SHIBANUMA, H. ISHII, Y. YANOSHITA, Y. TAKAHASHI and T. ŌMURA. Faculty of Horticulture, Chiba University, Matsudo, Japan. *Tech. Bull. Fac. Hort. Chiba Univ.*, No. 18: 43—48, 1970.

From the results of examining seasonal variation of chlorophyll content of lawn grasses, it was shown that chlorophylls were most abundant in July and August, amounting to 5% of fresh weight. In November chlorophyll content of noshiba and kōraishiba decreased to about half amount in contrast to that in July and August. Difference in chlorophyll content between species, noshiba and kōraishiba, was scarcely detected. Change of chlorophyll content in lawn grasses during storage period of six months on freezing condition (-30°C) was very little. In case of 30°C storage, the content of chlorophyll a, b and total chlorophylls decreased by about 28%, 20% and 25% respectively after only 30 hrs. Estimating xylan content of noshiba and kōraishiba, it was the largest in November in contrast to that in July and August. Comparing the results of separation percentage and recovery of crude xylans from noshiba with those of reeds, the former values were approximately equal to the latter. Separation of xylans from the residue after extracting showed no difference as compared with the results of separation from raw lawn grasses. According to gas chromatography of their methylated hydrolysate of crude xylan preparations, xylans in these preparation from noshiba and kōraishiba were found to be more than 70% in purity, accompanied by arabinose, rhamnose, glucose, galactose and other sugars. Summarizing above results, we consider that separation of xylans from lawn grasses is recommendable on the stand point of utilization of both components.

葉緑素は、そのポルフィリン環のもつマグネシウムの金属置換体をつくり、食品添加物あるいは歯磨に添加される等広い工業上の用途があり、現在蚕糞を原料として抽出利用されているが、養蚕業の衰微とともに蚕糞資源に不足を来している。

また、キシロースはキシランの加水分解により得られ

るが、糖尿病患者に対する医薬方面の用途および難醗酵性を生かした食品工業上の用途等が考えられている。植物体からキシランを抽出するに当っては、糸野 (1956)、湊 (1963) らの報告を参照した。藁稈類キシランに関する研究は、最近、石黒 (1968) らが行なっている。現在ではキシラン抽出原料として、イネワラ、コムギワラ等

の葉類が多く使用されているようである。

本研究は、葉緑素およびキシロースの資源開発を目的として、ゴルフ場等から多量に刈り取られるシバを原料として、葉緑素を抽出し、さらにその残渣からキシロースを製造することを狙いとして行ったものである。今回は、シバの生育中の両者の含量変化をしらべ、採取適期を定めるほか、粗製キシランを分離し、同時に含まれる構成糖を明らかにした。別にキシランについては、沼地川原等に自生するアシを材料として、その分離研究を行ない、シバキシランの場合と比較して参考とした。

実験材料および方法

1. 実験材料

ノシバおよびコウライシバ（昭和43年園芸学部庭園のもの）アシ（千葉県松戸市上矢切、江戸川原に自生のもの）。

2. 試薬

(1) クロロフィル定量用

i) アセトン：過マンガン酸カリウムを加え、数日間放置、不純物を分解後蒸溜して使用。

ii) エーテル：濃硫酸および水酸化ナトリウムにより不純物を除き水洗し、塩化カルシウムにより水分を除き、40~60°Cの溜分を使用。

iii) ベンゼン：水酸化カリウムのアルコール飽和溶液を加え、ふりまぜた後、蒸溜して使用。

(2) キシラン定量用

12%塩酸およびフロログルシン塩酸溶液を使用。

(1) クロロフィルの抽出および定量

東大農化教室編実験農芸化学（1962）記載の方法に準じて行なった。

シバの新鮮緑葉3gを採取し、正確に秤量後、ケイ砂とともに85%アセトンで乳鉢内で摩砕し、クロロフィルを抽出した。これは摩砕後の残渣が白色となるまでくり返して行く。最後の抽出をエチルエーテルで行うと、アセトンの使用が少なくてすみ、また抽出を早く完全に行うことができた。アセトン抽出液を2,500rpmで15分間遠心分離し、残渣を分けた後、半量ないし等量のエーテル液をまぜ、さらに水を加えてアセトン濃度を50%とし、クロロフィルをエーテルに転溶させた。エーテル層を取り、数回水洗してアセトンを完全に除く。このエーテル層に無水硫酸ナトリウムを加え、冷蔵庫に一昼夜放置して脱水し定容とした。

上記エーテル溶液を日立パーキン・エルマー139UV-VISスペクトロフォートメーターで、波長660m μ と642.5m μ の吸光度を測定し、次式によりクロロフィル含量を求めた。

$$\text{クロロフィルa(mg/l)} = 9.93D_{660} - 0.777D_{642.5}$$

$$\text{クロロフィルb(mg/l)} = 17.6D_{642.5} - 2.81D_{660}$$

$$\text{全クロロフィル(mg/l)} = 7.12D_{660} + 16.8D_{642.5}$$

$D_{642.5}$ ：エーテル溶液を1lにうすめたときの642.5m μ における吸光度

(2) キシランの定量法

試料を熱水で3時間浸出し、残渣に12%塩酸を加えて蒸溜し、溜出液360mlをとり、フロログルシン塩酸溶液40mlを注いでフロログルシッドを作り、アルコール洗浄後、KRÖBER氏表により算出する。以上はペントーザン定量法であるが、キシラン以外のペントーザンを含めてキシラン量と見なした。

(3) 粗製キシランの分離法

試料を10倍の2%アンモニア水で、室温で24時間処理し、水洗し、風乾後、15倍量の10%水酸化ナトリウム溶液を加えて、55°Cで48時間抽出し、抽出液に2倍量のメタノールを加えて1夜放置し沈殿した多量類をメタノールで洗浄し真空乾燥して粗製キシランを得た。

(4) ガスクロマトグラフィーによる粗製キシラン構成糖の検出

粗製キシランに含まれる糖比を知るため、BURCHFIELD（1962）記載の方法によるガスクロマトグラフィーを用いた。これに当って標準糖を用いてその検出法を検討し、測定条件を次のように定めた。

ガスクロ装置：日本電子KK製JGC-810型、カラム：ステンレス製0.3×100cm、カラム充填剤、5%レオプレックス・クロモソルブWAW、カラム温度：190°C 導入部温度：250°C、検出器温度：250°Cとし、検出器はFID Dual方式によった、キャリアーガスの流速はN₂ 15ml/min、H₂ 20ml/min、Air 1kg/cm²とした。また昇温法を用いた場合は、カラム温度150~190°C（初期タイマー3分）とした。

糖のメチル化：糖のメチル化は池川（1968）らの方法を用いた。

すなわち、糖をガスクロ用試料とするためには、トリメチルクロシランとヘキサメチルジシラーゼンを用いてメチル化し、完全に乾涸した後、少量のクロロホルムを加えてガスクロの試料とした。

実験結果および考察

1. シバのクロロフィル含量の時期的変化

7月から11月にわたる期間を4区に分け、ノシバおよびコウライシバにつき、クロロフィル含量の時期的変化を測定した結果は、第1表の通りである。

第1表に見るように、クロロフィルの含量は、ノシバ、コウライシバともに7月から11月にかけてほぼ減少

第1表 採取時期別シバのクロロフィル含量

品 種 名	採取月日	クロロフィル % 全クロロフィル		
		a	b	
ノ シ バ	7/15	0.36	0.14	0.50
	8/29	0.34	0.13	0.48
	9/19	0.20	0.11	0.30
	11/14	0.12	0.06	0.19
コウライシバ	7/15	0.36	0.15	0.51
	8/25	0.33	0.12	0.45
	9/19	0.35	0.13	0.48
	11/21	0.24	0.09	0.33

の傾向をたどっている。9月19日採取のコウライシバのクロロフィル含量は、ある程度高目に出ているので、多少のサンプル誤差が考えられる。表中の全クロロフィル含量について見ると、7月8月はノシバ、コウライシバとも約0.5%で最も多く、11月には0.2~0.3%程度に減少している。これは季節による外観上の変化とも一致する。したがって、シバの緑葉からクロロフィルを抽出利用する点では、7月8月のものが最も効率が良いと思われる。また、ノシバ、コウライシバの品種によるクロロフィル含量の差はほとんど認められない。

2. 貯蔵中のクロロフィル含量の変化

-30°Cでの冷凍状態におけるクロロフィル含量の変化を第2表に示す。また、盛夏の温度(30°C)で貯蔵したクロロフィル含量の変化を第3表に示す。

-30°C貯蔵の変化は、6ヶ月間の長期にわたる貯蔵でも、外観もクロロフィル定量値もほとんど変わらないものと認められる。30°C貯蔵の変化は、抽出液の色の変化は肉眼ではほとんど認め難いが、吸光度測定では、標準と比較し、貯蔵開始後25時間で、クロロフィルaが約28%、クロロフィルbが約20%減少し、全クロロフィルの含量が約25%の減少を見た。貯蔵中クロロフィルaの減少の早いことは、古くから述べられている。ただ、GOODWIN (1965) らは、クロロフィルの分解はa, bと

第2表 貯蔵期間別シバのクロロフィル含量(-30°C)

品 種 名	貯蔵期間	クロロフィル % 全クロロフィル		
		a	b	
コウライシバ	標準	0.36	0.15	0.51
	1ヶ月	0.37	0.17	0.54
	6ヶ月	0.34	0.16	0.50

第3表 貯蔵時間別シバのクロロフィル含量(30°C)

品 種 名	貯蔵時間	クロロフィル % 全クロロフィル		
		a	b	
コウライシバ	標準	0.34	0.16	0.50
	5時間	0.40	0.15	0.55
	20時間	0.27	0.12	0.38
	25時間	0.25	0.13	0.37
	48時間	0.25	0.12	0.36

も一定比率であるとの説を出している。

3. シバキシランの抽出率および回収率

試料50gをとり、粗製キシランを抽出し、その収量、抽出率、回収率その他をしらべた結果を第4表に示す。なお、アシについて同様方法で試験した結果をこれに付記した。

第4表から見ると、キシラン抽出については、ノシバの方がコウライシバより利用度が高い。アシおよび石黒(1968)らのしらべた藁稈類についての結果と比較すると、ノシバの利用度は、ほぼこれに近いものと思われるが、コウライシバはすべてにおいて劣る結果を得た。

シバおよびアシのキシラン含有率の時期的変化について試験した結果を第5表に示す。

試験期間中のノシバおよびコウライシバのキシラン含有率は、多少の差異ある結果を得たが、ほぼ大差ないものと認められる。アシの場合は、6月から10月にいたるに従い、茎のキシラン含量は増加し、逆に葉では減少するが、茎に対する葉の割合は少ないので、総体としては、6, 7, 8月とキシラン含量は増加していると思わ

第4表 シバキシランの抽出率および回収率

原 料	原料中のキシラン含有率 %	キシラン抽出率 %	粗製キシラン収量 g/100g	粗製キシラン中のキシラン含量 %	抽出液からのキシラン回収率 %	原料中のキシランの粗製キシランへの移行率 %
ノ シ バ	22.6	66.1	26.6	49.9	88.9	58.7
コウライシバ	19.8	49.4	20.2	48.4	99.9	44.7
ア シ (茎)	21.3	72.9	26.5	56.2	92.5	69.5
ア シ (葉)	17.7	68.3	24.5	46.2	93.5	63.7

第5表 シバおよびアンの採取時期別キシラン含量

採取月日 原料	7/15	8/29	9/19	11/14
ノシバ	23.4	22.8	22.6	24.7%
コウライシバ	22.6	21.8	19.8	22.8

採取月日 原料	6/18	8/18	10/18
アシ(茎)	20.3	21.3	23.8%
アシ(葉)	18.9	17.7	15.2

第6表 シバのクロロフィル抽出残渣中のキシラン含量

試料	キシラン
残渣(ノシバ)	22.4%
ノシバ	23.4
残渣(コウライシバ)	21.0
コウライシバ	22.6

第7表 標準単糖類の保持時間

ピーク No.	保持時間 (RT)*	糖の種類
1	5.0分	アラビノース ラムノース
2	6.1	アラビノース キシロース リボース
3	7.1	ラムノース キシロース リボース
4	8.4	キシロース
5	10.1	フラクトース
6	10.5	マンノース
7	11.5	マンノース
8	12.1	グルコース ガラクトース
9	12.9	グルコース
10	13.4	マンノース
11	15.4	ガラクトース グルコース
12	17.3	グルコース

* 昇温法によるものを示す

れる。8月以降は茎の伸張がとまるので、8月がキシラン利用上よい。

4. シバのクロロフィル抽出残渣中のキシラン含量
この測定結果を第6表に示す。

第6表の結果では、クロロフィル抽出残渣中のキシラン含量は、ノシバ、コウライシバとも原料そのもののそれとほとんど変わらないので、キシラン原料としてクロロフィル抽出残渣をそのまま利用することができる。

5. 標準単糖類のガスクロマトグラフィー

五炭糖類として、キシロース、アラビノース、リボース、ラムノース、六炭糖類として、グルコース、フラクトース、ガラクトース、マンノースの標準品を用いて、ガスクロマトの試料とし、検出ピークの位置および各糖の保持時間(RT)を測定した結果を第7表に示す。

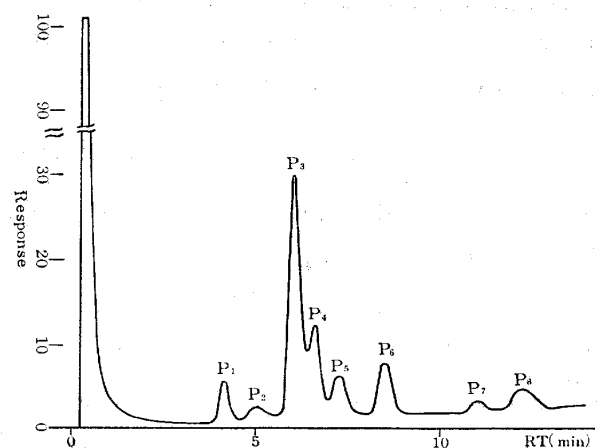
次に、シバキシラン加水分解物のガスクロマトによるピークと保持時間を第8表に、ノシバおよびコウライシバのガスクロマトグラムを、それぞれ第1図および第2図に示す。また、アシの茎および葉のキシランについて行った結果を第3図、第4図に参考として掲げる。

6. 粗製キシラン中の単糖比

分離した粗製キシランを加水分解した後、メチル化した試料を、ガスクロマトにかけ、得られたピークから、

第8表 シバキシラン構成糖の保持時間

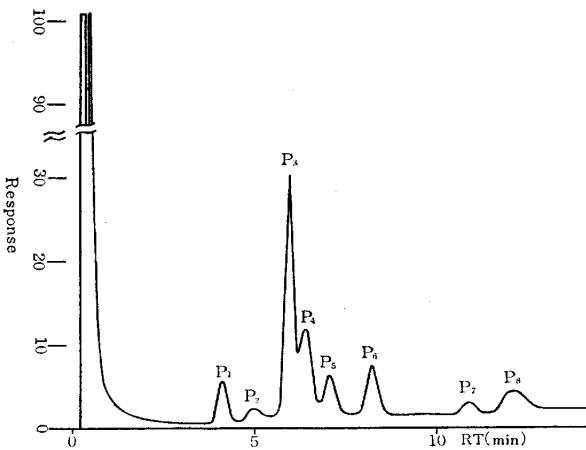
品 種	ピーク No.	保持時間	糖の種類
ノシバ	1	4.1分	
	2	5.0	アラビノース ラムノース
	3	6.1	キシロース
	4	6.5	アラビノース ラムノース
	5	7.2	キシロース
	6	8.3	キシロース
	7	11.0	
	8	12.0	グルコース ガラクトース
コウライシバ	1	4.1	
	2	5.0	アラビノース ラムノース
	3	6.1	キシロース
	4	6.7	アラビノース ラムノース
	5	7.3	キシロース
	6	8.5	キシロース
	7	11.0	
	8	12.2	グルコース ガラクトース



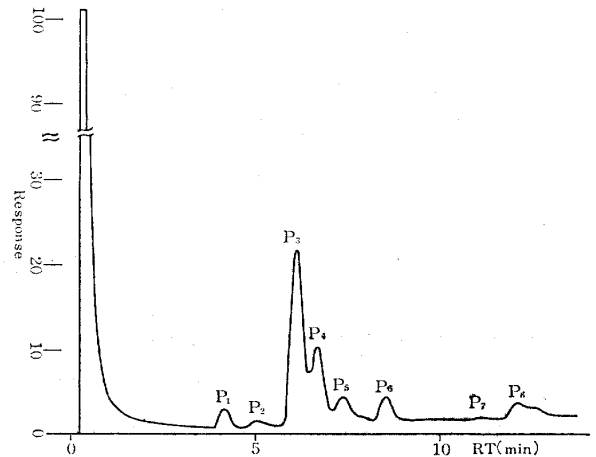
第1図 コウライシバキシラン加水分解物のガスクロマトグラム

第9表 粗製キシラン中の単糖比

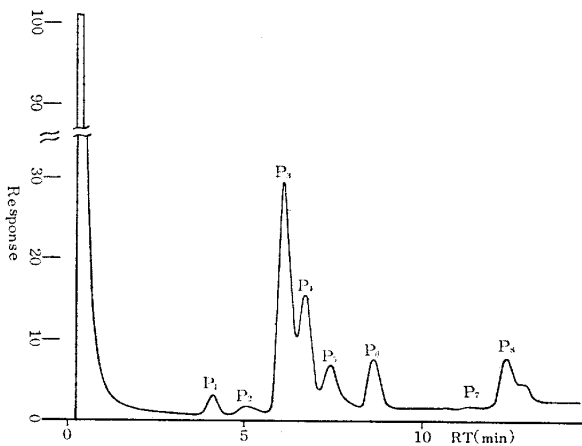
種類	単糖類			
	アラビノース ラムノース	キシロース	グルコース ガラクトース	その他
ノシバ	11.6	70.5	8.5	9.4
コウライシバ	11.5	73.5	6.6	8.4
アシ(茎)	11.7	73.5	10.4	4.4
アシ(葉)	13.0	75.0	6.5	9.4



第2図 ノシバキシラン加水分解物のガスクロマトグラム



第4図 アシ(葉)キシラン加水分解物のガスクロマトグラム



第3図 アシ(茎)キシラン加水分解物のガスクロマトグラム

摘 要

1. シバのクロロフィル含量の時期的変化についてしらべた結果、7、8月がその含量は約5%で最も多く、11月には、ノシバ、コウライシバとも7月8月の半量程度に減少した。
2. ノシバ、コウライシバの品種によるクロロフィル含量の差は認められない。
3. -30°Cでの冷凍状態による貯蔵中クロロフィルは、6ヶ月間の長期にわたっても、はっきりした変化が認められない。
4. 30°Cでの貯蔵の場合には、貯蔵開始後25時間で、クロロフィルaが約28%、クロロフィルbが約20%、全クロロフィルが約25%減少した。
5. ノシバ、コウライシバの7、8、9、11月のキシラン含有率を測定した結果、11月が最も多い含量を示した。葉緑素の利用と合せ考えると、7月8月が利用度が高いと考えられる。
6. ノシバの粗製キシランの抽出率、回収率を測定した結果をアシおよび藁稈類のそれと比較すると、ほぼ匹敵する程度であった。

重量によりおよその構成糖を求めた。参考として、上記と同様な方法により得たアシの茎および葉の粗製キシランの構成糖を比較したものを第9表に示す。

第9表によれば、シバ、アシから得た粗製キシランのキシロース純度は、アシの葉から得たものが最も高く、ノシバから得たものが最も低かった。どの種類についても、その純度は70%以上であった。

7. 葉緑素を抽出したシバの残渣のキシラン含有率は、生のものから抽出したものとほとんど差のないことがわかった。

8. 粗製キシランの構成糖をガスクロマトグラフィーにより測定した結果、キシラン純度は70%以上で、他にアラビノース、キシロース、ガラクトース等を含む。

以上により、7、8月のシバから葉緑素を抽出利用し、その残渣からキシランを製造する方法が両者の利用上有効と思われる。

文 献

- 1) BURCHFIELD H. P. and E. E. STORRS (1962) : Biochemical Applications of Gas Chromatography, A. P. New York : 596.
- 2) GOOWIN T. W. (1965) : Chemistry and Biochemistry of Plant Pigment, A. P. New York : 474.
- 3) 池川信夫・船阪渡 (1968) : 最新ガスクロマトグラフィー (Ⅱ), 広川書店, 東京 : 686.
- 4) 石黒修・二宮英二 (1968) : 日食工学誌, 15 : 250.
- 5) 桑野文雄・神立誠 (1959) : 農化誌, 33 : 379.
- 6) 湊一・斉敏行・遠藤明・村上健夫・植村定次郎 (1963) : 農化誌, 37 : 379.
- 7) 東京大学農学部農芸化学教室編 (1962) : 実験農芸化学, 朝倉書店, 東京 : 421.