

炭水化合物代謝に関する研究：第二報 植物体内の 炭水化合物定量に HAGEDORN 法の應用

三山, 良輔
九州帝國大學農學部生物化學教室

<https://doi.org/10.15017/20790>

出版情報：九州帝國大學農學部學藝雜誌. 3 (4), pp.370-376, 1929-12. 九州帝國大學農學部
バージョン：
権利関係：



炭水化合物代謝に關する研究¹⁾

第二報 植物體內の炭水化合物定量に HAGEDORN 法の應用

三 山 良 輔

(昭和四年十一月二十五日受領)

I. 緒 言

植物體內に於ける炭水化合物の定量を行ふに際し微量定量の必要に迫らる事多く、其の目的に應じて各方法を撰擇すべきなれども其の資料の量と誤差の少なき點に於て最も優れりと思はるる HAGEDORN & JENSEN (5) 氏の血糖定量法を一般植物體の系統的分析に應用せんとして此の研究に着手せり。

II. 實 驗 の 部

1) 不純物の除去

HAGEDORN & JENSEN の糖定量法に於ては豫め供試品より不純物を除去するに水酸化亞鉛を以て行ふものなり。

然れども植物體に於ては血糖に於けるよりも還元力に影響ある單寧及び其の分解物を含有するもの少なからざるを以て、蛋白質の外此等の物質の除去にも關係ありと思はる鹽基性醋酸鉛、水酸化亞鉛及び OSTERBERG (1) 示薬を用ひて葡萄糖及び單寧混合液に於て行ひし結果は次の如し。

Fig. 1

Cleaning process	True conc. of Glucose	True conc. of Tannic acid	Glucose obtained
Basic lead acetate	100 mgr/100cc	150 mgr/100cc	112 mgr/100cc
Osterberg's reagent (I)	100	150	85
Zinc hydroxide	100	100	96

以上の結果によれば HAGEDORN & JENSEN 兩氏の不純物除去法にて得たる數値は眞の葡萄糖含量に最も近し。

1) 九州帝國大學農學部生物化學教室邦文報告第 45 號

糊精は水酸化亜鉛にて沈澱物と共に除去せらるるが故に、供試水溶液中に糊精の存在する場合には、糊精を Amylase に依りて糖化せしめたる後に非らざれば此の方法を用ふるを得ず。

2) 糖化に及ぼす蛋白質の影響

鹽酸又は Takadiastase (Protease を含む) を以て澱粉及び糊精を糖化するに際し、同時に供試品中の蛋白質の加水分解を生ず可く、而して蛋白質分解物中に還元性物質の存在する事は既に余輩の報告したる所なり、又一方に於て蛋白除去に於て吸着の爲糖量の變化も考へらる可きを以て次の實驗を行へり。

a) 蛋白として Edestin を取り Molish の反應無き迄再結し、之を澱粉に加へ Association of American official Agricultural chemist の方法により鹽酸にて糖化したる後水酸化亜鉛にて所理し、殘在せる蛋白を除去し、然る後定量せり。

Fig. 2

True conc. of Starch mgr/100cc	100	100	100	100	0
True conc. of Edestin mgr/100cc	0	20	50	100	100
Glucose obtained mgr/100cc	93.9	93.3	94.2	106.8	21.2

即ち炭水化合物の量に比し Edestin の量の少なる時は誤差少なり。

b) 次に前記の混合物を Takadiastase に依り分解したる後水酸化亜鉛にて處理し定量せる結果は次の如し。

Fig. 3

True conc. of Starch mgr/100cc	100	100	100	100
True conc. of Edestin mgr/100cc	0	20	50	100
Glucose obtained mgr/100cc	94.2	94.9	93.3	99.3

以上に於ても蛋白質の量少なれば誤差少なり。

3) 酸度及び鹽類の影響

一般に微量定量法に於て酸を使用して糖化を行ひ次に之を中和したる場合に於て、精密に中性ならざる時は微量なる酸度の過不足が大なる誤差を生ずるものにして、V.H. MORRIS (6) は此の酸度の過不足が糖定量に及ぼす影響を述べたり。然るに酸度のみならず中和に依りて生ずる鹽によりても誤差を生ずる事多し。されば酸並びに鹽の影響を知らんと欲し鹽酸並びに食鹽を別々に葡萄糖に添加し、各其の混合液に於て糖を定量したる結果は次の如し。

a) 鹽酸の影響

資料は葡萄糖が 1 立中に 100 毛を含み含有酸度を鹽酸にて増加せる溶液 1 c.c を使用す。

(特に濃度を $\frac{1}{10}$ に減ず。)

Fig. 4

HCl conc. of Sample	Normal	0.0001	0.003	0.0006	0.0013
Glucose determind	m.gr per 100 cc	100.8	99.8	92.1	85.3

6) 鹽の影響

資料として用ひたる葡萄糖溶液は 1 立中に 100 毫の葡萄糖を含み之に食鹽を含有せしめ之の食鹽の濃度の差による葡萄糖定量の影響を見たり。(特に濃度を $\frac{1}{10}$ に減ず。)

Fig. 5

NaCl of Sample %	0.4	1.0	4.0	10.0
Glucose determind	100.6	101.6	102.6	101.8

以上の結果によれば HAGEDORN & JENSEN 法に於ては資料の酸度並に鹽の濃度の影響は實驗の範圍にては大ならず、此點に於て此の方法は他の微量定量法に優る。

4) 糖の種類

種々の微量定量法を用ゐ各種の還元糖を處理し、其の結果を葡萄糖として計算すれば次の如き結果を與ふ。

茲に比較の爲に自己の結果を GREENWALD (3) WILLIAM (10) PUCHER (9) 氏の報告と併記すれば次の如し。

Fig. 6

	Picric acid method				Folin & Wu method			Hagedorn & Jensen method		Shaffer Hartmann method	
	Pucher	Green wall	William	Miyama	Pucher	Green wall	Miyama	Pucher	Miyama	Green wall	Miyama
Glucose	1.000	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Fructose	1.100	0.98	1.00	0.98	1.125	0.91	0.96	1.19	1.04	0.90	0.96
Galactose	0.925	0.95	0.883	0.91	0.748	0.75	0.74	0.80	0.82	0.80	0.84
Arabinose	1.110	1.02	1.000	1.04	0.836	0.80	0.81	0.92	0.91	0.80	0.85
Xylose	1.057	1.09	1.071	1.07	1.028	0.94	0.97	0.92	0.93	0.80	0.86
Maltose	0.743	0.82	0.0770	0.80	0.411	0.40	0.42	0.75	0.73	0.42	0.48

即ち以上の結果を見るに HAGEDORN & JENSEN 法に於ては果糖の値は葡萄糖に最も近く Pentose は少なき値を與ふ。

5) 麦芽糖の定量

澱粉定量の場合に麦芽糖として計算する必要に迫る事屢あるを以て次の実験を行へり。

Fig. 7

c.c. of Potassium Ferryanide Solution	0.10	0.20	0.30	0.40	0.50	0.60	0.70	0.80	0.90	1.00
Maltose in m. gr in 100 c.c. Sample	0.012	0.025	0.038	0.051	0.064	0.074	0.090	0.103	0.116	0.130
Glucose in m. gr. in 100 c.c. Sample.	0.017	0.035	0.053	0.076	0.088	0.106	0.124	0.141	0.159	0.177

c.c. of Potassium Ferryanide Solution	1.10	1.20	1.30	1.40	1.50	1.60	1.70	1.80	1.90	2.00
Maltose in m. gr in 100 c.c. Sample	0.142	0.15	0.169	0.182	0.194	0.207	0.220	0.233	0.246	0.259
Glucose in m. gr. in 100 c.c. Sample	0.195	0.24	0.232	0.251	0.270	0.290	0.310	0.331	0.353	0.384

以上の結果を見れば使用されたる赤血鹽の量を横軸に採り糖量を縦軸に採りて兩者の關係を曲線に畫けば麦芽糖の場合に於ては殆んど直線となり、葡萄糖の場合に於ては其の濃度大なる場合には稍下降するを知る、之の結果は HANES (5) の實驗と略一致するものなり。

6) 植物體内の炭水化合物の定量

以上の實驗により Hagedorn 法が植物體にも利用され得べきを知りたるを以て、此の方法を用ひ實際植物體に於て實驗し、其の結果を BERTRAND 法と比較したり。植物體内の糖類を定量するに用ゐたる操作次の如し。

a. 植物體を MYERS and CROLL (7) 氏に従ひ水にて浸出し得たる水溶性糖類の中、還元糖を先づ HAGEDORN 法にて定量し、次に Association of American official agricultural chemist の方法により全水溶性糖類を轉化したる後 HAGEDORN & JENSEN 法にて之を定量し、兩者の差によりて非還元性糖類の量を算出したり。

b. 澱粉の定量二種の方法にて行ひたり MEYERS & CROLL (7) の方法に多少變化を加へ Amylase (Takadiastase) に依りて分解後更に其の溶液を酸分解を行ひ麦芽糖を悉く葡萄糖に變化せしめて定量せり。次に行ひし方法は PRINGSHEIM (8) 氏に従ひ Maltase 無き Amylase を製し之の Amylase を用ひ其溶液の酸度を PH, 4.4 附近に調節し、糖化作用を營ましめたる後麦芽糖として定量を行ひたり。(最近 Bish F.J.B. (2) 氏は醋酸を以て酸度を調節して Takadiastase により糖化せしめて微量の澱粉を麦芽糖として定量を行へり。)

c. 植物體の澱粉を糖化せしめし際に生じたる残渣を酸にて分解し中和したる後 HAGEDORN Jensen 法にて Hemi cellulose の定量を行へり。

以上の如き注意を用ゐて微量定量法たる Hagedorn & Jensen 法を用ひて得たる結果と鹽基性醋酸鉛を用ひて不純物を除き Bertrand 法を用ひて得たる結果を比較すれば次の如し。

Fig. 8

Samples		% of Reducing Sugar	% of Water Soluble non reducing. sugar	% of Starch	% of Hemi cellulose
Rice straw	Bertrand	2.08	2.39	1.65	8.51
	Hagedorn	2.19	2.41	1.61(Converted with Taka-diastase and acid) 1.60(Converted with malt Amylase free from maltase)	8.48
Rice brau	Bertrand	0.80	0.87	57.87	5.33
	Hagedorn	0.84	0.88	57.92(Converted with Taka-diastase and acid) 58.24(Converted with malt amylase free from maltase)	5.30

此くして得たる微量定量法と Bertrand 法との結果は略一致す。但し還元糖に於ては稍高き結果を與ふると雖も其の資料の量並びに濃度の著しく小なるを認め得可し。

上記の比較に使用せる資料の量並びに一回に使用すべき糖量を示せば次の如し。

Fig. 9

	gr. of Rice straw used	gr.s. of rice brau used	The upper & lower limit of the quantity of the glucose to be used m. gr.
Hagedorn's method	0.2500	0.5000	0.017~0.385
Bertrand method	10.0000	20.0000	10. ~ 169

III 總 括

1 微量定量法たる HAGEDORN & JENSEN 法を植物體の炭水化物の定量に應用し一般に使用する BERTRAND 法にて得たる結果と比較して近似なる値を得たり。但し HAGEDORN 法に於て BERTRAND 法の約四百分の一の供試品を使用するものなり。

2 HAGEDORN & JENSEN 法は資料乏しき植物體に於ける炭水化合物の全量又は、或特種なる炭水化合物の定量に利用され且濃度低き資料の定量に使用し得べし。

3 HAGEDORN & JENSEN 法は植物體の蛋白質單寧等を沈澱除去する場合には良き結果を與ふ。

4. 此の方法は酸及び鹽の存在による影響少なるを以て還元糖のみならず多糖類を酸にて

分解したる場合にも精密なる結果を與ふ、

5. 葡萄糖果糖の HAGEDORN & JENSEN 示薬に對する還元力は夫れ夫れ近けれども Pentose の夫れは稍小なり。

6. 澱粉の定量に於て Maltase 無き Amylase を使用し麥芽糖として定量し得たり。

文 献

- | | |
|---|--------------------------------------|
| 1) BENEDICT. S. R., and OSTERBERG. E., | J. Biol. Chem., 1918, XXXIV, 195. |
| 2) Bish. E. J. B. | Biochem. J., 1929 XXIII 31. |
| 3) GREENWALD. I. and SAMET. I. GROSS. J., | J. Biol. chem., 1929~5 LXII 397. |
| 4) HAGODORN. H. O., & Jensen. B. N., | Biochem. Z., 1923 CXXXV 46. |
| " | Biochim. Z., 1923 CXXV 92. |
| 5) HANES. C. S., | Biochem. J., 1929 XXIII 99. |
| 6) MORRIS. V. H., | J. Agr. Res., 1926 XXX 195. |
| 7) MYERS. V. C. & CROLL. H.M., | J. Biol. Chem., 1921 XLVI~XLVII 540. |
| 8) PRINGSHEIM. H. U. THILL. E., | Biochem. Z., 1928 CCOIII 99. |
| 9) PUCHER. G. W & FINCH. M. W., | J. Biol. Chem., 1924.,~5 LXII 397. |
| 10) WILLIAM. | J. Agr. Res., 1924 XXVIII 479. |

THE STUDY OF CARBOHYDRATE METABOLISM.

II. ON THE APPLICATION OF HAGEDORN'S METHOD TO THE DETERMINATION OF CARBOHYDRATE IN VEGETABLES

(Résumé)

Ryosuke MIYAMA.

In the study of the carbohydrate metabolism of plants, it is frequently necessary to perform an accurate quantitative determination of carbohydrate with only a minute amount of samples available. From this viewpoint, the author made a comparative study of several micromethods of determining sugar, in the preceding paper (1), and came to the conclusion that Hagedorn's method is the most reliable.

In the present paper the author examined Hagedorn and Jensen's blood sugar method, to ascertain whether this method is applicable for micro determination of carbohydrate in vegetables, and found that it is available.

The protein precipitant used by Hagedorn and Jensen also showed as good results as in proteins on the precipitation of tannins which are usually contained in vegetables.

This method is only slightly effected by the excess of acid or salts, consequently the method is applicable to the determination of disaccharide which is easily convertible.

The reducing power of glucose and fructose, against Hagedorn and Jensen's reagent, is nearly equal but that of pentose is smaller.

By the use of special amylase free from maltase, the author was able to determine starch as maltose.

Hagedorn and Jensen's method was found to be applicable to the determination of not only total and special carbohydrates but also of the determination of sugars.

Hagedorn and Jensen's method can be used with as minute quantity of sugar as one hundredth of the quantity used in Bertrand's method.

Reference

- (1) Miyama: The study of carbohydrate metabolism. I. On the comparison of the micro analytical methods of glucose. *Bulteno Scienca de la Fukultato Terkultura, Kyushu Imperial University*, 3, 122, 1928.
-