

# 植物細胞壁由来の多糖類に関する研究

松浦 康

**要旨** ペクチンは植物細胞壁の構成多糖類成分の一つであり、植物柔組織の細胞壁中層と一次壁に存在する。細胞壁においてはその大部分はゲル状で存在している。主骨格の構成単糖はD-ガラクトキチン酸であり、中性単糖としてアラビノース、ガラクトース、キシロース、ラムノースおよび微量のその他の単糖類が検出されている。本稿では双子葉植物、単子葉植物、マメ類などのペクチン酸の構造について論じ、ホモガラクトキチン酸領域、ラムノガラクトキチン酸領域の存在状態に基づく分子構造による分類を試みる。調理における煮える現象、果物の熟れる現象とペクチンの関係について論じる。植物病原菌はペクチン質分解酵素を産生し、植物自身もペクチン質分解酵素を含有している。これらペクチン質分解酵素についても論じる。さらに、ペクチンと他の難消化性多糖類に関する食品栄養学的研究についても言及する。

**キーワード**：ペクチン、ペクチン酸、ペクチン質分解酵素、難消化性多糖類

## I. ペクチン酸の構造と性質ならびに ペクチン酸分解酵素

ペクチンは陸上維管束植物の象徴的な物質である。ペクチンは主として双子葉植物において研究されてきた。とりわけリンゴやサイカモアカエデのカルスのペクチンを使って研究が進んだが、近年では野菜類、果菜類、豆類や単子葉植物などへと研究対象が広がってきている。

ペクチンは植物柔組織の細胞壁の中層と一次壁に存在している。その起源は細胞分裂の際に出現するペクチンのみから成る細胞板であり、細胞の成長初期に細胞板を中心にして、その両側にペクチン、アラビナン、アラビノガラクトタンなどが生成されて一次壁が、次いでヘミセルロース、セルロースなどが生成されて二次壁が形成される。従って、ペクチンは主として細胞の最外側に存在し、細胞どうしの接着の役割を果たしている(図1)。接着によって組織が組み立てられ、適度な堅さ、弾性、可塑性が与えられる。また、陰イオンを有する多糖としてイオン輸送や細胞壁の透過性の調節、保水等の役割も果たしていると考えられる。ペクチンは組織の木化

とともに消失する。

ペクチン質とは、ペクチン (Pectin)、プロトペクチン (Protopectin)、ペクチン酸 (Pectic acid) などペクチンに関連する物質の総称であり、また、ペクチン抽出時に同時に抽出されるアラビナン (Arabinan)、アラビノガラクトタン (Arabinogalactan) などもペクチン性の多糖として取り扱われている。ペクチンはガラクトキチン酸残基のカルボキシル基がメチルエステル化されているもので高メチル化 (或いは高メトキシル化) ペクチン、低メチル化 (低メトキシル化) ペクチンなどの分類もある。ペクチン酸はメチルエステルを総て加水分解してあるものを指し、天然には存在しない。プロトペクチンは組織中で不溶性の状態が存在しているペクチンを言う。

### ペクチンの構造

ペクチンに関する最初の報告はVauqueline (1) による植物組織から水で抽出され、エタノールによって沈殿する物質についてであるとされている。その後Ehrlich (2) はペクチンの主な構成糖はガラクトキチン酸であることを立証した。Hengleinと

Schneider (3) はニトロペクチンとニトロセルロースの性質を比較してペクチンが直鎖状の高分子であることを示した。Schneider等 (4) はニトロペクチンにアラビノースとガラクトースが検出されないことから、ペクチンはガラクチュロン酸のみから成る単純多糖であると考えた。また、Hirst と Jones (5) はリンゴのペクチン酸を酸沈殿によって分別し、アラビノースとガラクトースのみの成分とガラクチュロン酸に富む成分とに分別できることを示した。これらの結果より、ペクチンはガラクチュロン酸を構成単糖とする単純多糖であり、常に検出されるアラビノース、ガラクトースはヘミセルロースの成分であると考えられるようになった。このような考え方は1960年頃まで有力であったが、Speiserはペクチンにおける中性糖類はペクチンを低分子になるまで分解しても除去できないため、それら中性糖類はペクチンの構成糖類であると推定していた (6)。その後、ペクチン酸の精製にイオンクロマトグラフィー法が導入され、ペクチン酸は中性多糖類と容易に分離できるようになった。この方法によって精製されたペクチン酸を使用して、1955年小沢 (7) はニンジンと *Penicillium expansum* の糖化型ポリガラクチュロナーゼによるペクチン酸の分解について検討し、ペクチン酸の非還元末端から約13%のところまで分解が止まることを見出し、その部分に異常結合、即ち中性糖類の結合が存在することを推定した。Aspinall と Fanshawe (8-a) はムラサキウマゴヤシのペクチンの加水分解物中にガラクチュロノシルラムノースあるいはラムノースやガラクトースの結合したガラクチュウロナイドを検出して中性糖がペクチン分子中で共有結合によって存在していることを認めた。また、Aspinallら (8-b) はダイズペクチンにガラクチュロン酸と中性糖との結合物を検出して、中性糖がペクチンの構成単位であることを確定した。Barrett と Northcote (9) はペクチンが $\beta$ -脱離反応 ( $\beta$ -エリミネーション反応、後述) によって分解され、ガラクチュロン酸残基のみの成分と元のペクチン中の中性糖がそのまま残存するかなり高分子のウロナイドに分別されることを示し、中性糖がペクチン分子のある範囲に密集 (後述のラムノガラクチュロナン) して存在することを明らかにした。畑中と小沢はニンジン (10) とカビ (11) のエキソポリガラクチュロナーゼ、酵母 (*Kluyveromyces*

*marxianus*、以前は *Kluyveromyces fragilis* または *Saccharomyces fragilis*) のエンドポリガラクチュロナーゼ (12) を用いてペクチン酸の構造を酵素化学的に研究し、柑橘ペクチン酸分子のほぼ中央に中性糖が密集して存在し、その密集部分の大きさはガラクチュロン酸残基量として約10%であること、ガラクチュロン酸残基のみから成る部分が非還元末端ならびに還元末端側に存在することなどを明らかにした (13、14、15、16、17、18、図2)。当時、この中性糖の密集部分の領域を「中性糖ブロック」と呼んでいた (19)。その後、この中性糖ブロックに存在するラムノースは側鎖としてではなく主鎖の中にガラクチュロン酸残基と1,2-結合をした形で存在することが証明され、中性糖ブロックをラムノガラクチュロナン領域 (Rhamnogalacturonan region) と呼び、ガラクチュロン酸残基のみから成る部分をホモガラクチュロナン領域 (Homogalacturonan region) と呼んだ。その後ラムノガラクチュロナン領域の存在については、酵素化学的な方法によってその存在が確かなものとされた (20、21、22、23)。

一方、ペクチン酸を還元後、即ち、ガラクチュロン酸残基をガラクトース残基に変換後、メチル化分析を行い、主として2、3、6-トリ-O-メチル-D-ガラクトースを検出することにより、ガラクチュロン酸残基の大部分は1,4結合によって直鎖状の主鎖を形成していること (24)、又、比旋光度  $[\alpha]_D^{20}$  が  $+280^\circ$  であり、さらに酵素による分解産物から4-O ( $\alpha$ -D-ガラクトシルウロン酸)-D-ガラクチュロン酸が分離・同定されたことにより、その結合は $\alpha$ -結合であることが示され (25)、ペクチン酸はD-ガラクチュロン酸の $\alpha$ -1,4結合から成っていることが立証された。

ペクチンにおいて検出される中性単糖は通常、アラビノース、ガラクトース、キシロース、マンノース、グルコースそれにラムノースであり (表1)、それらはラムノガラクチュロナン I から由来すると考えられる。ラムノガラクチュロナン領域の構造はペクチン酸をペクチン酸分解酵素によって限度まで分解し、得られる中性糖含量の大きな酸性多糖類、即ちラムノガラクチュロナンについて行われる。その構造はかなり複雑でありガラクチュロノシルラムノースの主鎖からアラビノース、ガラクトースのオリゴ糖側鎖、あるいはキシロースなどの側鎖が伸びて

いる (26、図3)。さらに、ラムノガラクトチュロナンIIの存在が知られているが、アラビノース、ガラクトース、フコース、アピオース、アセリン酸 (3-O-カルボキシ-5-デオキシ-L-フコース)、グルクロン酸ならびにラムノースが構成糖であることが報告されており、その構造についても研究されている (27-a、27-b)。松浦はラムノガラクトチュロナンのガラクトチュロニン酸残基もホモガラクトチュロナンのそれとほぼ同じ率でメチルエステル化されていることを明らかにした (28)。

ペクチン分子はラムノース残基へのガラクトチュロニン酸残基の結合が多くの場合、1,2結合であるため、ホモガラクトチュロナンどうしラムノース残基をはさんで角度を持つようになり、分子全体としてはラムノース残基の所で大きく折れ曲がることになる (21、図4)。また、ホモガラクトチュロナンはアミロースと同様にらせん構造を取っていると考えられている。

その後、De Vries等 (22) はペクチンの分子構造について仮説を提案し、ラムノガラクトチュロナン領域が一分子中に複数個存在する可能性について示唆した。松橋等 (29) は柑橘類、イチゴのペクチン酸について酵素化学的方法により、ラムノガラクトチュロナン領域が1個ないし複数個存在し、還元末端、非還元末端のホモガラクトチュロナン領域の大きさ、あるいはラムノガラクトチュロナン領域に挟まれたホモガラクトチュロナン領域の大きさがペクチンの由来によって異なること、あるいは組織の成長の度合いによって異なることを明らかにし (表2、図5)、ペクチンの分子構造についての理解が大きく進展した。

松浦 (30、31) はインゲンマメ種子からウロン酸含量の低いペクチン様酸性多糖を分離した。この酸性多糖はウロン酸含量39.6%で、キシロース、フコース、アラビノース含量が特に高いのが特徴であった (100モルのガラクトチュロニン酸あたり、ラムノース、痕跡；フコース、34.8；アラビノース、55.2；キシロース、52.4；ガラクトース、10.2)。この酸性多糖はポリガラクトチュロナーゼによってわずかではあるが分解されるのでペクチン性多糖であるとした。このペクチン性多糖をシュウ酸による加水分解、アセトリシス、緩和スミス分解、などにより順次表面構造からはぎ取り、メチル化分析により末端構造を解析しながら側鎖の構造を決定し、最終的

に得たポリガラクトチュロナイドをPGにより分析した。その結果、 $\alpha$ -1,4結合のガラクトチュロニン酸主鎖があり、アラビノース、ガラクトースから成る中性糖ブロックが検出され、かつ、ホモガラクトチュロナン領域のガラクトチュロニン酸残基にキシロースが結合し、キシロースにフコースが結合した側鎖が分子全体に分布することを明らかにした (図6)。

Matsuura とHatanaka (32) はダイコン、キャベツからウロン酸含量の小さいペクチン性多糖を分離した。この多糖はポリガラクトチュロナーゼによる分解結果から、ホモガラクトチュロナン領域が10~25%であり、ラムノガラクトチュロナン領域の割合が大きい弱酸性ペクチン性多糖であった。また、通常のペクチン酸と、この弱酸性ペクチン性多糖の中間的な形をしたペクチン性多糖も同時に分離した (表1)。さらに、ダイコンのペクチン抽出残渣からアルカリ抽出を行い、pH4における沈殿とアルカリによる溶解を繰り返し、さらにDEAE-セルロースクロマトグラフィーによる精製を行い、キシロース含量の非常に大きい酸性多糖を分離した (33、表3)。この多糖もポリガラクトチュロナーゼによって分解されるので、ペクチン性多糖であるが、かなりヘミセルロースに類似した性質を有している。

単子葉植物のペクチンは、従来の報告ではガラクトチュロニン酸含量が比較的小さいペクチンが得られていた。松浦 (34) はタマネギのペクチン酸について検討し、ウロン酸含量98%という高ウロン酸含量で、酵素化学的方法によってラムノガラクトチュロナン領域が複数個存在するペクチン酸を得た。同時に、タマネギ組織にPGが存在し、ペクチン酸処理中または保存中に分解されるために、低ウロン酸含量のペクチン酸が得られていたことを証明した。

上述のことをもとにペクチン質の分子構造をホモガラクトチュロナンの大きさや、ラムノガラクトチュロナンの配置状態をもとに分類することができる (図7)。

## ペクチン

ラムノガラクトチュロナン領域の割合がガラクトチュロニン酸残基として10~20%である。

- I. ラムノガラクトチュロナン領域が一分子中1個のペクチン。ラムノガラクトチュロナン領域の存在場所は非還元末端に偏ったもの、還元末端に偏ったもの、分子のほぼ中央に存在するものがあ

る。

- II. ラムノガラクトクロナン領域が一分子中2個以上のペクチン。図中の $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\delta$ の大きさはそれぞれのペクチンで異なる。

#### 弱酸性ペクチン性多糖

- III. 構成単糖類は上述のペクチンと同じであるが、ホモガラクトクロナン部分の割合がペクチンに比べて小さい弱酸性ペクチン性多糖類である。  
IV. ホモガラクトクロナン領域の割合がIIIよりさらに小さい弱酸性ペクチン性多糖類。

#### インゲンマメ型弱酸性ペクチン性多糖

- V. ラムノガラクトクロナン領域に相当する部分は存在し、ホモガラクトクロナン領域に相当するガラクトクロン酸残基の約半数に中性糖の短い側鎖が結合している。豆類に存在する。

#### ヘミセルロース様弱酸性ペクチン性多糖

- VI. キレート剤でペクチンを抽出して得られた残渣からアルカリで抽出され、キシロースを多量に含有し、また、pH4で沈殿するなどヘミセルロース様の性質を有する弱酸性ペクチン性多糖。

#### ペクチンの分解

ペクチンは中性水溶液中で加熱するとき、あるいはアルカリ性水溶液中では室温においても $\beta$ -脱離による分解が起こる(35)。この反応はメチルエステル化されたガラクトクロン酸残基において起こり、非還元末端側に4,5不飽和ガラクトクロン酸を有するウロナイドが生成する(図8)。ペクチン酸ではこの反応は起こらない。この $\beta$ -脱離の反応生成物は二重結合に由来する235nmの吸収(35)を(分子吸光係数、4,5-unsaturated digalacturonic acid に対して4,800)、またはチオバルビツール酸反応(36)を測定することにより定量することができる。インゲンマメ由来のメチル基を含有するガラクトクロナイドを中性で加熱したときのチオバルビツール酸反応による検出例を示す(図9)。松浦(37)はインゲンマメペクチン性多糖とその分解物を使って、中性糖側鎖は $\beta$ -脱離反応を阻害する事を証明し(図9)、マメ類が煮えにくいのはマメペクチンに中性糖側鎖が多数結合しているためであるとしている。

測上(38, 39)はこの $\beta$ -脱離によるペクチンの分解と野菜が煮えて柔らかくなる現象の関連を調理科学的に解析した。それによると、ペクチンの分解はpH4付近で最小となり、pH6以上ではその分解は急速に進むことを明らかにし(図10)、加熱によって野菜が煮える原因は細胞を接着しているペクチンが分解され、可溶化されて細胞どうしの接着がゆるむためであると考えた。この分解は $\beta$ -脱離によるものである。このように、植物組織からペクチンを加熱抽出する際はpHを4付近に保つことが必要である。松浦(40)はインゲンマメ子葉組織をシュウ酸アンモニウム緩衝液(pH 4.2)で抽出し、経時的に細胞壁の変化を光学顕微鏡で観察すると共に、抽出される多糖類との関連を検討した。組織の軟化(マセレーション)は顕微鏡的には変化が観察されない時期に起こり、抽出を続けると、細胞はばらばらに離解されることを観察した。故に組織の軟化は比較的少量のペクチンの溶出あるいは分解によって起こると考えられる(図11)。また、ペクチンの溶出にともない、多量の中性多糖が溶出されるが、これら中性多糖類も組織の軟化に関係していると考えられる。

果物や果菜類が熟れる現象はクロロフィルが分解され、カロテノイドの黄色ないしは赤色が現れること、芳香の産生、組織の軟化あるいは甘味の生成などによって判断できる。この組織の最初の軟化は主としてペクチナーゼ(ペクチンメチルエステラーゼ、ポリガラクトクロナーゼ)(後述)によって起こる場合が多い。これは、上述の野菜が煮えて柔らかくなる現象と同じで、PGによりプロトペクチンが分解されて可溶化されることにより、細胞の接着が緩むためである。その後、ヘミセルラーゼ、セルラーゼが産生されて、その作用により一次壁、二次壁が崩壊し過熟の状態になる(41)。

近年、トマトについてペクチナーゼと組織の軟化との関連がよく研究されるようになった(42, 43, 44)。これはトマトの保存、輸送上の必要があったためと思われるが、トマトの熟れる現象のうち組織の軟化のみを制御してその他の熟れる現象はそのままにしたいということである。この為にはポリガラクトクロナーゼを制御すればよいことになる。そこで、ポリガラクトクロナーゼ・アンチセンス遺伝子を導入しポリガラクトクロナーゼの発現を抑制することによって組織の軟化を抑制した。しかし、未熟



なトマトの硬さのままではなく、ヘミセルラーゼ、セルラーゼなどの作用ならびに他の酵素の作用により、ある程度の軟化は起きている。

### ペクチン酸分解酵素

ペクチン質分解酵素は細菌、カビ、酵母、植物に広く分布している。ペクチン酸分解酵素を有する微生物は植物病原菌であることが多い。植物においては自らの生理現象、即ち成長の際の細胞壁の緩みあるいは離層でのペクチンの分解、あるいは発芽の際のエネルギー供給などの目的があると考えられる。ペクチン質分解酵素はデポリメラーゼとペクチンエステラーゼ (Pectin esterase) の二種類に大きく分けられる。ペクチンエステラーゼはペクチンのメチルエステルまたはアセチル基を加水分解する酵素である。デポリメラーゼはペクチンまたはペクチン酸における糖鎖を切断する酵素であって、ポリガラクトクロナーゼ (Polygalacturonase, PG) とペクチンまたはペクチン酸リアーゼ [Pectin lyase (PGML), Pectate lyase (PGL)] を含む。さらに近年、ラムノガラクトクロナンを加水分解するラムノガラクトクロナーゼ (Rhamnogalacturonase) (45) が *Aspergillus aculeatus* から部分精製されたことが報告されている。ペクチン質分解酵素をまとめたものを図12に示す。ここでは主としてペクチン酸分解酵素について述べる。

PG (Poly- $\alpha$ -1,4-D-galacturonide glycanohydrolase) は最初 Bouquelot と Herissey (46) によって麦芽の中に発見されたとされている。PGはガラクトクロン酸の $\alpha$ -1,4結合を加水分解する酵素であって、いま、多糖類のグリコシド結合を $R_1-O-R_2$ とし、 $R_1$ を非還元末端を、 $R_2$ は還元末端を含むものとすれば、PGは $R_1-O$ を加水分解する。ペクチンを分解するPGも報告されているが、多くのPGは低メトキシペクチンまたはペクチン酸を加水分解する。従って、生体ではペクチンメチルエステラーゼと協同で作用していると考えられ、あるいはペクチンメチルエステラーゼを介して何らかのフィードバック機構が働いているのかもしれない。PGは一般的に至適pHは4~5である。

PGのエキシ型は非還元末端からガラクトクロン酸 [ニンジン (47, 11)、*Bacillus* 属 (48)、*Aspergillus niger* (12)] またはジガラクトクロン酸 [*Erwinia* 属 (49, 50)、*Pseudomonas* 属 (51)]

を遊離する。ガラクトクロン酸残基に中性糖側鎖が結合していると、そこで分解反応は停止する。あるいはラムノガラクトクロナンは分解できないなどの性質がある。4,5-不飽和オリゴガラクトクロナイド (重合度2~5) を分解するエキソ型PGも見出された (52)。最近、中島と松浦 (53) は単子葉植物の玉ネギとシロネギがエキソ型PGを産生していることを見出し、精製している。

エンド型PGはガラクトクロン酸の $\alpha$ -1,4結合を無作為に切断し、分解産物としてガラクトクロン酸、ジガラクトクロン酸、トリガラクトクロン酸を産生する [*Saccharomyces fragilis*, 現在 *Kluyveromyces marxianus* (54, 55)]。しかし、トリガラクトクロン酸は同じ酵素によって徐々に分解されるので、最終産物はガラクトクロン酸、ジガラクトクロン酸であると考えたほうがよい。その後 *Acrocylindrium* 属のエンド型PGが結晶化された (56)。カビのエンドPGに関する研究は多く報告されており、ここでは比較的新しい文献を挙げておく (57, 58, 59, 60)。

細菌が産生するエンド型PGについては報告例が少ない。その中でアルカリ側に至適pHを有するPGが *Bacillus* 属 (61) から部分精製されているが、作用形式は通常のものとは変わらない。

高等植物ではトマト (62)、キウイフルーツ (63) などにエンド型PGが検出されている。その他、リンゴ、ナシ、モモなどにPGが検出されている。

トマトのエンド型PGはその後多くの研究がなされ (42, 43, 44)、遺伝子工学的な制御の対象になったことは前述のとおりである。植物によってはPGが全く検出されない場合があるが、PG作用を阻害する因子が存在するために活性が検出できないことがある。例えば、キウイフルーツ (63) の場合は阻害因子を不活性化してPG活性を検出している。

酵母のエンド型PG (54, 55) はガラクトクロン酸残基2個以上の結合を分解する。中性糖側鎖があってもその両側にガラクトクロン酸残基が伸びていれば、その中性糖側鎖の両側のガラクトクロン酸結合を分解できる。しかし、ラムノガラクトクロナンは分解できない。このようなエンド型ならびに前述のエキシ型の酵素的性質を利用してペクチン酸の分子構造を研究することができる (15, 16, 17, 18, 19, 20, 31)。

ペクチン酸リアーゼ (Pectate lyase, Poly- $\alpha$ -1,4-D-galacturonide lyase, PGL)はペクチン酸トランスエリミナーゼ (Pectic acid transeliminase)とも呼ばれていたが、この反応は先に述べた非酵素的な $\beta$ -脱離反応と同じく、上述のO-R<sub>2</sub>を切断して非還元末端に4、5-不飽和ガラクトン酸を生ずる反応である。この酵素は主として細菌が産生し、至適pHがアルカリ側 (pH8~9) にあってカルシウムイオンにより活性が増大する。PGLは*Bacillus*属 (エンド型、64、65、66、67、68、69)、*Erwinia*属 [(70)、エキソ型 (71)、エンド型 (72、73)] についてよく研究されている。さらに、嫌気性細菌では*Clostridium*属 [エキソ型 (74、75)、エンド型 (76、77)]、*Bacteroides*属 (78) から発見されている。中島等 (77) は*Clostridium butyricum-Clostridium beijerinckii* group の場合、炭素源としてペクチン酸にコンニャクグルコマンナンを共存させると、ペクチン酸単独の場合に比べてエキソ型を2倍量産生すること、エンド型の最終分解産物は4,5-unsaturated trigalacturonic acid であるが、エキソ型が共存すると4,5-unsaturated trigalacturonic acid が分解されて4,5-unsaturated digalacturonic acid を最終産物として生成することを報告した。PGLのエキソ型は還元末端から4、5-不飽和ジガラクトン酸を遊離しながら分解する。故に、前述のニンジンのエキソ型PGと組み合わせて使うと、ペクチン酸の分子構造の解析に便利である (31)。

ペクチンリアーゼはメチル化されたガラクトン酸残基の結合を $\beta$ -脱離によって分解する酵素であり、カビ (79) によって産生されるとされているが、細菌である*Bacillus subtilis* (69)、*Pseudomonas fluorescence* (80) などが産生することも報告された。植物には検出例は報告されていなかったが、最近、Taniguchi等 (81) はスギ花粉からPGLを検出した。PGLが花粉管の伸張に関係すると考えられるが、花粉管伸張の環境が弱アルカリ性であることが推定される。

プロトペクチナーゼ (Protopectinase) は不溶性ペクチンを可溶化する酵素である。プロトペクチンはペクチンメチルエステラーゼ、PGまたはPGLなどの協同作用によって可溶化が起こるとされていたが、Sakai等は酵母 (*Tricosporon penicillatum*) からプロトペクチンを可溶化する

単一の酵素を分離した (82、83)。

## II. 難消化性多糖類に関する食品栄養学的研究

食物繊維はdietary fiber の訳であるが、現在のところその定義は必ずしも確立されていない。一般的には難消化性多糖類 (非デンプン性多糖類) とリグニン、難消化性デンプンおよびその関連化合物ならびにオリゴ糖などその他の難消化性物質が食物繊維と呼ばれている。ここでは植物由来の難消化性多糖類のうちセルロース、キシラン、アラビノガラクトタン、ペクチン、ペクチン酸、アルギン酸 (以上、構造多糖)、コンニャクグルコマンナン、イヌリン (以上、貯蔵多糖) について述べる。

食物繊維は可溶性食物繊維と不溶性食物繊維に分けて考えられている。それらの機能性については、すでに多くの研究があり、解説書もある。しかし、定量法については現在も問題があつて必ずしも確立されているとはいえない。また、機能性を理解するための基礎となる食物繊維の大腸内での分解機構ならびに分解産物に関する報告は少ない。

ヒト大腸内での食物繊維の分解に関する主なものを挙げる。井上はコンニャクグルコマンナンをヒトに投与すると、大便中には検出されなくなることを報告し、腸内細菌によって分解されたと推定した (84)。Vercellotti等は事故死したヒトの大腸内容をゲル濾過し大腸下部の内容物は低分子化されていることを報告した (85)。Englyst等 (86) は始めて分解に関与するのは多糖類分解酵素であると認識し、酵素分解の観点からヒト大便を用いてデンプン、アラビノガラクトタン、キシラン、ペクチンの分解について検討し、それぞれの分解酵素が大便中に存在することを証明した。Matsuura (87) はヒト大便酵素を用いてペクチンの分解について検討し、ヒト大便内のペクチン分解酵素は脱離酵素 (Pectate lyase) であり、至適pHはアルカリ側にあり、ペクチンの分解産物は4,5-不飽和ジガラクトン酸であることを報告した。また、ペクチン酸の加水分解酵素は検出されなかった。

松浦 (88) はヒト大腸内における多糖類の分解の全体像を知るためヒト大便より可溶性酵素と細胞結合性酵素を調製し、まずコンニャクグルコマンナン (KGM) の分解様式を検討した。それによると、可溶性酵素によりKGMは主として $\beta$ -1,4-

mannobiose, cellobiose, 4 - O -  $\beta$  - D - glucopyranosyl -mannopyranoseなどの二糖類に分解され、これら二糖類は細胞結合性酵素により単糖類に分解された後、細菌類により資化される。このように大便内酵素は $\beta$ -1,4-glucanase,  $\beta$ -1,4-mannanaseの作用によりオリゴ糖を生成し、そのオリゴ糖は $\beta$ -1,4-mannosidase,  $\beta$ -1,4-glucosidaseにより単糖にまで分解されることが明らかになった。

J-L. Barryら(89)はヒト大便を培養して増殖する菌(菌の種類は不明である)によるセルロース、トウモロコシ種皮、ダイズ繊維、甜菜繊維、ペクチンの分解について検討した。それによると、セルロース、トウモロコシ種皮は分解されにくかったが、ペクチン、ダイズ繊維はよく分解された。

その後、松浦(90)はペクチン、ペクチン酸、アルギン酸、キシラン、アラビノガラクトン、カルボキシメチルセルロース(CMC)、KGM、イヌリンのヒト大便内酵素による分解について検討した。還元基の生成量、またはゲル濾過による低分子化率によって分解量を個人別に比較し、その酵素活性の合計値が個人により大きく異なること、ならびに分解の対象となる多糖類の分解量が個人により異なることを見出した。一般的には多くの人はキシランをかなり分解するが、CMC、アラビノガラクトン、アルギン酸は分解されにくかった。ペクチン、ペクチン酸、KGM、イヌリンの分解は個人差が大きく、これらの分解量の差が個人差となって現れる結果となっている。この個人差については、分解量は食物繊維摂取量とは相関せず、高齢になるほど高くなる傾向はあるが、例外もあるので現状では年齢との関係も強くは主張できないので、腸内細菌叢の性質の差によるものであるとしている。

可溶性酵素によるペクチン酸の分解はPolygalacturonaseによるものも検出されたが、Pectate lyaseによるものが大部分である。従って、ペクチンの分解は比較的pHの高い盲腸から近位結腸において速やかに起こり、短鎖脂肪酸の生成によりpHが低下するに伴い、至適pHが酸性側にある中性多糖類分解酵素が作用しやすい環境が整うことになると考えられる。

単離された細菌による多糖類の分解については多くの報告がある。ヒト腸内細菌に限ってみると、*Bacteroides*属の細菌はヒト腸内細菌の主要なもの

の一つであるが、*B. thetaiotaomicron*はpectate lyaseを産生しペクチン酸を分解して4,5-不飽和ジガラクトン酸を生成すること、ならびにpectate hydrolaseを産生することが報告された(91)。松浦(92、93)はヒト大便から*Clostridium butyricum*を分離し、ペクチン酸の分解について検討した。この菌も主としてエンド型のpectate lyaseを産生し分解産物として4,5-不飽和ジガラクトン酸を生成する。さらにこの菌はガラクトン酸よりむしろ4,5-不飽和ジガラクトン酸をよりよく資化して短鎖脂肪酸を生成する事を明らかにした。このように、ヒト大腸内におけるペクチン質の分解は、可溶性酵素の場合も合わせて考えると $\beta$ -脱離によって行われていると考えられる。また、*Cl. butyricum*はアルギン酸は分解できず(93)、KGM分解酵素を産生する(94)。また、pectate lyase、KGM分解酵素産生は誘導的であることを示した(77)。

植物細胞壁は堅く、頑丈であって、細胞壁ならびに細胞質中の栄養物質は細胞壁が壊れない限り、吸収、利用されることはないと考えられる。例えば、無機物は胃においてpHが下がるので、溶出が可能であるとの議論があるが、食物が入ったときの胃内容物のpHは3-4であって、それほどの溶出は起こらないと考える。むしろ、大腸内において細菌によって細胞壁が破壊されて始めて溶出がおり、吸収されていると考える方が妥当であろう。現在、一般的にはヒト大腸においては水のみが吸収され、他の物質は吸収されないとされているが、食物繊維に関する研究分野では酢酸、プロピオン酸、酪酸などの短鎖脂肪酸や、無機物などは大腸壁から吸収されることは広く認められている(95)。

草食動物の消化管における難消化性多糖類の分解はruminant bacteriaと呼ばれる一群の細菌類や原虫類、真菌類が関与して行われるとされている。これらの微生物によって多糖類は分解、発酵されて短鎖脂肪酸を生成し、それらを利用してエネルギー源、その他の栄養源としている。ヒトの場合も大腸において上述のように小規模ながら草食動物におけると同様に栄養摂取を行っており、適応によってこの大腸栄養の部分の大きくなることは可能であると思われる。この大腸栄養については腸内細菌との共生と密接に関連しており、栄養学的に大きな可能性を秘めていると考える。

## 文 献

- 1) Z. I. Kertesz, The pectic substances. Interscience publishers Inc., New York, 1951.
- 2) F. Ehrlich, Chem-Ztg., 41, 197 (1917).
- 3) F. A. Henglein and G. C. Shneider, Ber., 69, 309 (1936).
- 4) G. C. Shneider and U. Fritshi, Ber., 69, 2537 (1936).
- 5) E. L. Hirst and J. K. N. Jones, J. Chem. Soc., 1939, 454.
- 6) R. Speiser, J. Pol. Sci., 2, 281 (1947).
- 7) 小沢潤二郎, 農学研究, 42, 157 (1955) .
- 8-a) G. O. Aspinal and R. S. Fanshawe, J. Cem. Soc., 1961, 4215.
- 8-b) G. O. Aspinal, I. W. Cottrell, S. V. Egan, I. M. Morison and J. N. C. Whyte, J. Chem. Soc. (C), 1967, 1071.
- 9) A. J. Barrett and D. H. Northcote, Biochem. J., 94, 617 (1965).
- 10) C. Hatanaka and J. Ozawa, Agric. Biol. Chem., 28, 627 (1964).
- 11) 畑中千歳, 小沢潤二郎, 農化, 43, 77 (1955).
- 12) 小沢潤二郎, 岡本賢一, 林 哲吾, 農学研究, 47, 105 (1959).
- 13) 畑中千歳, 小沢潤二郎, 農化, 40, 98 (1966).
- 14) 畑中千歳, 小沢潤二郎, 農化, 4, 106 (1966) .
- 15) 畑中千歳, 小沢潤二郎, 農化, 4, 421 (1966).
- 16) 畑中千歳, 小沢潤二郎, 農化, 41, 165 (1967).
- 17) 畑中千歳, 小沢潤二郎, 農化, 42, 693 (1968).
- 18) 畑中千歳, 小沢潤二郎, 農化, 43, 67 (1969).
- 19) G. M. W. Cook and R. W. Stoddart, "Surface Carbohydrates of the Eukariotic Cell," Academic Press, London, 1973, p. 177.
- 20) S. Ishii, Phytochemistry, 20, 2329 (1981).
- 21) K. W. Talmadge, K. Keegstra, W. D. Bauer and P. Albersheim, Plant Physiol., 51, 158 (1973).
- 22) J. A. DeVries, F. M. Rombouts, A. G. J. Voragen and W. Pilnik, Carbohydr. Polym., 2, 25 (1982).
- 23) L. Saulnier, J. M. Brillouet and J. P. Joseleau, Carbohydr. Res., 182, 63 (1988).
- 24) S. S. Battacharjee and T. E. Timell, Can. J. Chem., 43, 758 (1965).
- 25) J. K. N. Jones, W. W. Reid, J. Chem. Soc., 1954 1361.
- 26) H. A. Shols, M. A. Posthumus and A. G. J. Voragen, Carbohydr. Res., 206, 117 (1990).
- 27-a) T. Doco and J. M. Brillouret, Carbohydr. Res., 243, 333 (1993).
- 27-b) T. Doco, P. Williams, S. Vidal, P. Pellerin, Carbohydr. Res., 297, 181 (1997).
- 28) Y. Matsuura, Agric. Biol. Chem., 51, 1675 (1987).
- 29) S. Matsuhasi, N. Nishikawa, T. Negishi and C. Hatanaka, J. Liq. Chromat., 16, 3203 (1993).
- 30) 松浦 康, 農化, 57, 851 (1983).
- 31) 松浦 康, 農化, 58, 253 (1984).
- 32) Y. Matsuura and C. Hatanaka, Agric. Biol. Chem., 52, 2583 (1988).
- 33) Y. Matsuura and C. Hatanaka, Agric. Biol. Chem., 52, 3215 (1988).
- 34) Y. Matsuura, K. Matsubara and M. Fuchigami, J. Food Sci., 65, 1160 (2000).
- 35) P. Alberthheim, H. Neukom and H. Duel, Arch. Biochem. Biophys., 90, 46 (1960).
- 36) 岡本賢一, 畑中千歳, 小沢潤二郎, 農学研究, 50, 61 (1964).
- 37) 松浦 康, 農化, 5, 1111 (1984).
- 38) 洲上倫子, 栄食誌, 36, 219 (1983).
- 39) 洲上倫子, 栄食誌, 36, 294 (1983).
- 40) Y. Matsuura and C. Hatanaka, Agric. Biol. Chem., 54, 3013 (1990).
- 41) 山木昭平, 「果実の科学」, 伊藤三郎編, 1994, 朝倉書店, p. 32.
- 42) G. Seymour, S. E. Harding, A. S. J. Taylor, G. H. Hobson and G. A. Tucker, Phytochemistry, 26, 1871 (1987).
- 43) D. M. Tieman and A. K. Handa, Plant Physiol., 90, 17 (1989).

- 44) W. Shuck, C. R. Bird, C. J. S. Smith, C. F. Watoson, P. C. Moris, J. E. Gray, C. Arnold, G. B. Seymour, G. A. Tucker and D. Grierson, *Plant Mol. Biol.*, 13, 303 (1989).
- 45) H. A. Schols, C. C. J. M. Geraeds, M. F. Searl-van Leeuwen, F. J. M. Kormelink and A. F. J. Voragen, *Carbohydr. Res.*, 206, 105 (1990).
- 46) E. Bouquelot and H. Herissey, *J. Pharm. Chim.*, 8, 145 (1898).
- 47) 小沢潤二郎, *農化*, 26, 505 (1952).
- 48) S. Hasegawa and C. W. Nagel, *Arch. Biochem. Biophys.*, 124, 513 (1968).
- 49) 畑中千歳, 小沢潤二郎, *農化*, 43, 764 (1969).
- 50) C. Hatanaka and J. Ozawa, *Agric. Biol. Chem.*, 33, 116 (1969).
- 51) C. Hatanaka and T. Imamura, *Agric. Biol. Chem.*, 38, 2267 (1974).
- 52) K. Nozaki, K. Miyairi, S. Hozumi, Y. Fukui and T. Okuno, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 61, 75 (1997).
- 53) Y. Nakajima and Y. Matsuura, 未発表.
- 54) H. J. Phaff and A. L. Demain, *J. Biol. Chem.*, 218, 875 (1956).
- 55) D. S. Patel and H. J. Phaff, *J. Biol. Chem.*, 234, 237 (1959).
- 56) T. Uchino, Y. Kurono and S. Doi, *Agric. Biol. Chem.*, 30, 1066 (1966).
- 57) T. Sakai and A. Takaoka, *Agric. Biol. Chem.*, 49, 449 (1985).
- 58) K. Miyairi, T. Okuno and K. Sawai, *Agric. Biol. Chem.*, 49, 1111 (1985).
- 59) M. D. Lourdes, T. M. Polizeli, J. A. Jorge and H. F. Terenzi, *J. Gen. Microbiol.*, 137, 1815 (1991).
- 60) K. Miyairi, T. Matsue, O. Kagawa and T. Kutsuzawa, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58, 1909 (1994).
- 61) K. Horikoshi, *Agric. Biol. Chem.*, 36, 285 (1972).
- 62) R. J. MacDonnell, E. F. Jansen and H. Lineweaver, *Arch. Biochem.*, 6, 389 (1945).
- 63) I. Soda, T. Hasegawa, T. Suzuki and N. Ogura, *Agric. Biol. Chem.*, 50, 3191 (1986).
- 64) C. W. Nagel and R. H. Vaughn, *Arch. Biochem. Biophys.*, 94, 328 (1961).
- 65) S. Hasegawa and W. H. Nagel, *J. Food Sci.*, 31, 838 (1966).
- 66) C. T. Kelly and W. H. Fogarty, *Can. J. Microbiol.*, 24, 1164 (1978).
- 67) A. Karrbassi and K. H. Vaughn, *Can. J. Microbiol.*, 26, 377 (1980).
- 68) Y. Miyazaki, *Agric. Biol. Chem.*, 55, 25 (1991).
- 69) T. Sakamoto, R. A. Hours and T. Sakai, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58, 353 (1994).
- 70) M. P. Star and F. Moran, *Science*, 135, 920 (1962).
- 71) K. Okamoto, C. Hatanaka and J. Ozawa, *Agric. Biol. Chem.*, 28, 331 (1964).
- 72) S. Kamiyama, Y. Itoh and K. Izaki, *Agric. Biol. Chem.*, 41, 975 (1977).
- 73) H. Tanabe, Y. Kobayashi, Y. Matsuo, N. Nishi and F. Wada, *Agric. Biol. Chem.*, 48, 2113 (1984).
- 74) J. B. Macmillan, H. J. Phaff and R. H. Vaughn, *Biochemistry*, 3, 564 (1964).
- 75) J. B. Macmillan, H. J. Phaff and R. H. Vaughn, *Biochemistry*, 3, 572 (1964).
- 76) 松浦 康, *農化*, 61, 1583 (1987).
- 77) N. Nakajima, K. Ishihara, M. Tanabe, K. Matsubara and Y. Matsuura, *J. Biosci. Bioeng.* 88, 331 (1999).
- 78) R. E. Maccarthy, S. F. Kotarsky and A. A. Salyers, *J. Bacteriol.*, 161, 439 (1985).
- 79) R. D. Edstrom and H. J. Phaff, *J. Biol. Chem.*, 239, 2403 (1964).
- 80) A. F. Schlemmer, C. F. Ware and N. T. Keen, *J. Bacteriol.*, 169, 4493 (1987).
- 81) Y. Taniguchi, A. Ono and M. Kurimoto, *Allergy*, 50, 90 (1995).
- 82) T. Sakai and M. Okushima, *Agric. Biol. Chem.*, 42, 2427 (1978).
- 83) T. Sakai and H. Okushima, *Agric. Biol. Chem.*, 46, 667 (1982).
- 84) 井上憲政, *栄養学雑誌*, 2, 9 (1942).
- 85) J. R. Vercellotti, D. A. A. Salyers and T. D.



- Wilkins. Amer. J. Clin. Nutr., 31, S86 (1978).
- 86) H. N. Englyst, S. Hay and G. T. Macfarlane, FEMS Microbiology Ecology, 95, 163 (1978).
- 87) Y. Matsuura, Agric. Biol. Chem., 55, 885 (1991).
- 88) Y. Matsuura, J. Nutr. Sci. Vitaminol., 44, 423 (1998).
- 89) J-L. Barry, C. Hoebler, G. T. Macfarlane, S. Macfarlane, J. M. Mothers, K. A. Reed, P. B. Mortensen, I. Nordogaard, I. R. Rowland and C. J. Rumney. British J. Nutr. 74, 303 (1995).
- 90) 未発表
- 91) R. Maccarthy, S. F. Kotarsky and A. A. Salyers, J. Bacteriol. 161, 493 (1985).
- 92) 松浦 康, 農化, 61, 1583 (1987).
- 93) 松浦 康, 農化, 69, 17 (1995).
- 94) N. Nakajima and Y. Matsuura, Biosci. Biotech. Biochem. 61, 1739 (1997).
- 95) W. V. Engelhardt, in "Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids" . ed. J. H. Cummings, J. L. Rombeau and T. Sakata. Cambridge university press. 1995, p. 149.

## Studies on Polysaccharides from Plant Cell Wall

YASUSHI MATSUURA

*Department of Nutritional Science, Faculty of Health and Welfare Science, Okayama Prefectural University. 111 Kuboki, Soja-Shi, Okayama 719-1197, Japan.*

**Key Words:** polysaccharides of plant cell wall, pectin, pectic acid, pectinase, human fecal bacteria.

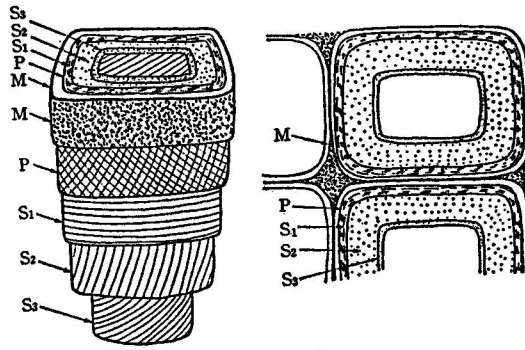


図 1. 植物細胞壁の構造

M, 中層; P, 一次壁; S, 二次壁 [E. M. Davey et al., Poultry Sci., 48, 251(1969)]

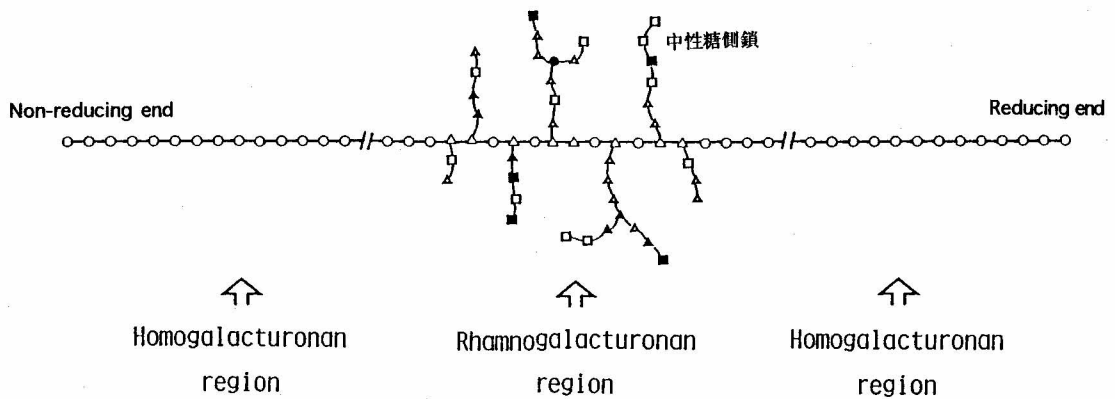


図 2. ペクチン酸の分子構造のモデル (畑中)

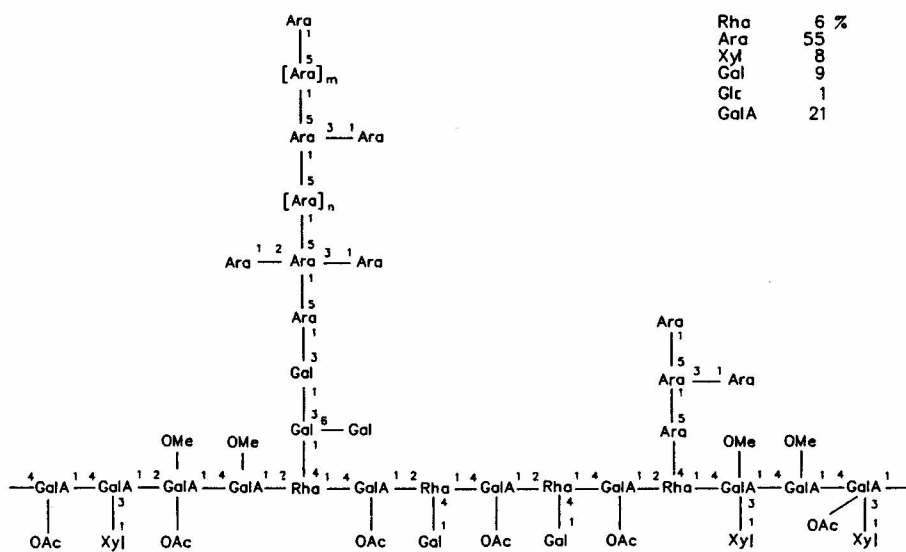


図 3. ラムノガラクチュロナン I の推定構造 (H. A. Schols 等)

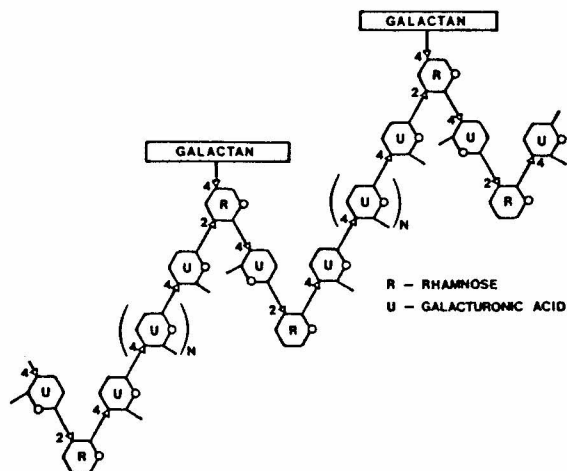


図 4. ペクチン分子におけるラムノースを含む領域の構造 (K. W. Talmadge 等)

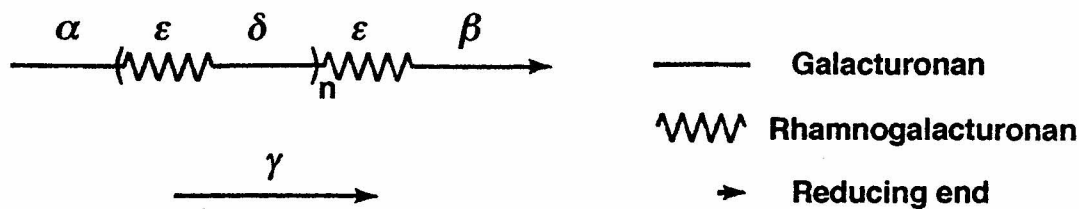


図 5. ペクチン酸の分子構造のモデル (松橋等)

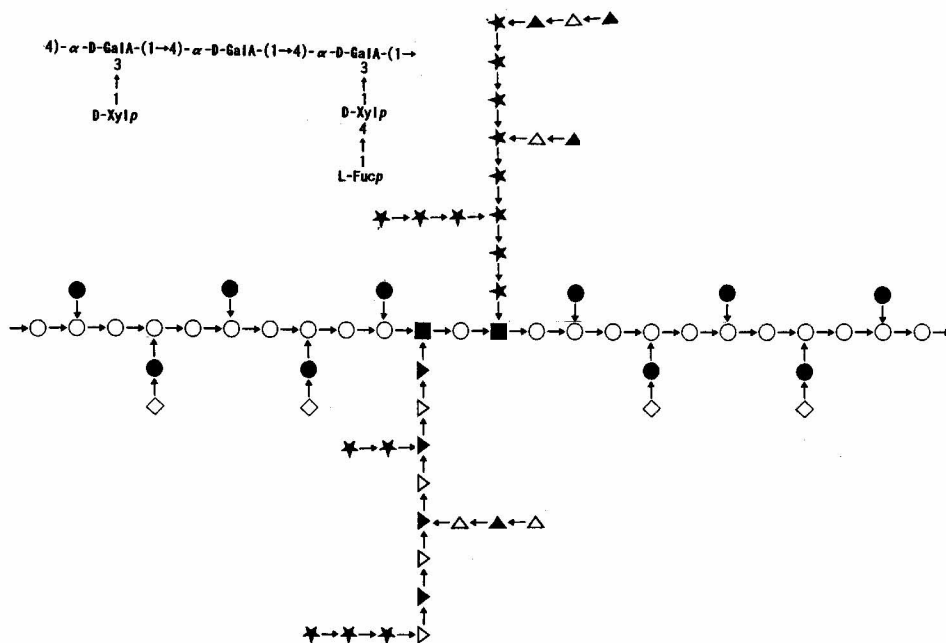


図 6. インゲンマメペクチン性多糖の分子構造のモデル

○, ガラクチュロン酸; ●, キシロース; ◇, フコース; ■, ラムノース; △, ▲, ★, 中性単糖類

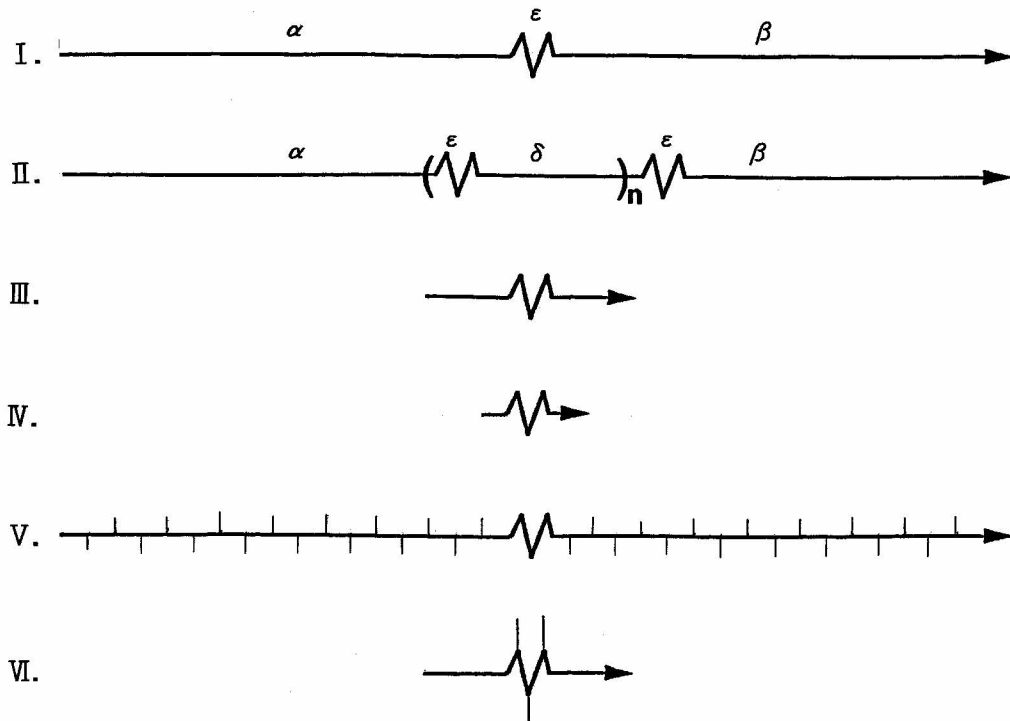


図 7. ペクチン質の分子構造にもとづく分類

一、ホモガラクトクロナン； $\mathbb{M}$ 、ラムノガラクトクロナン； $|$  (V)、キシロース、フコシルキシロースまたはキシロピオース； $|$  (VI)、ヘミセルスロース性中性糖側鎖。 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\delta$ および $\varepsilon$ は図6を参照。

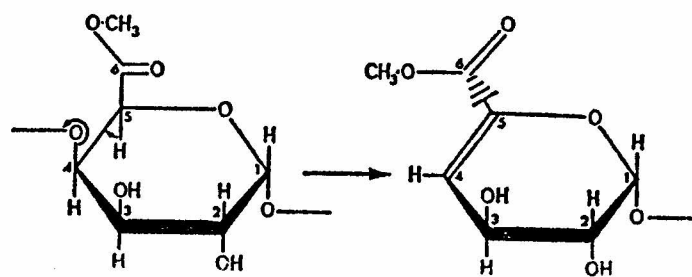


図 8. ペクチンの $\beta$ -脱離（トランスエリミネーション）反応  
(G. M. W. Cook and R. W. Stoddart, 1976)

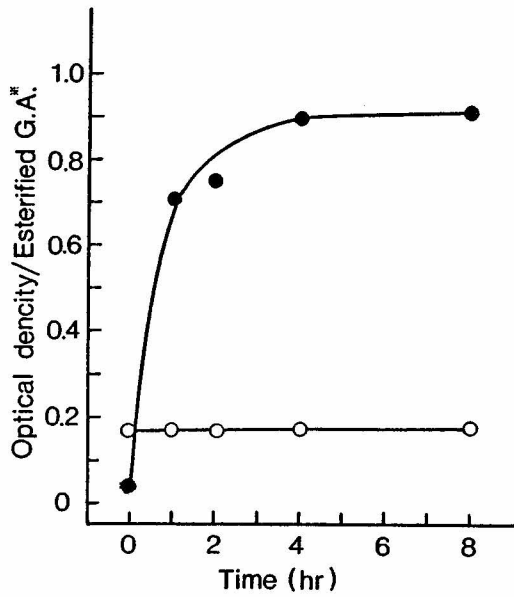


図 9.  $\beta$ -脱離反応によりペクチンより生成したチオバルビツール酸反応陽性物質の経時的変化  
○、インゲンマメペクチン性多糖； ●、インゲンマメペクチン性多糖の中性糖側鎖を除去したものを。



図 10. ペクチンの分解に対する pH の影響  
●、98°C 1時間加熱； ○、98°C 5時間加熱（測上）。

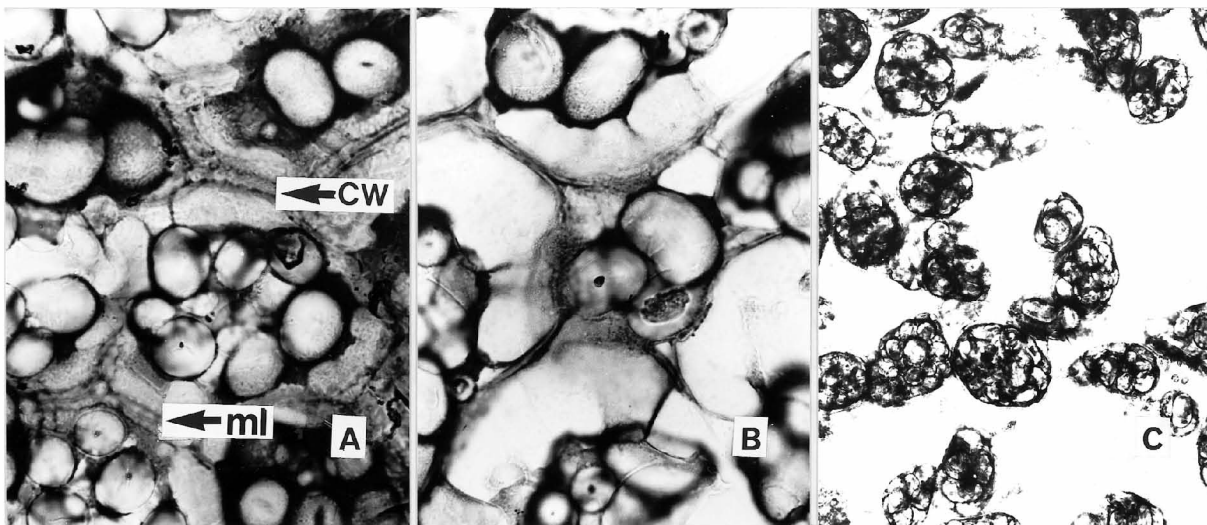


図 11. インゲンマメの細胞壁成分の溶出と細胞の離解  
A、未加熱； B、4時間加熱； C、20時間加熱。



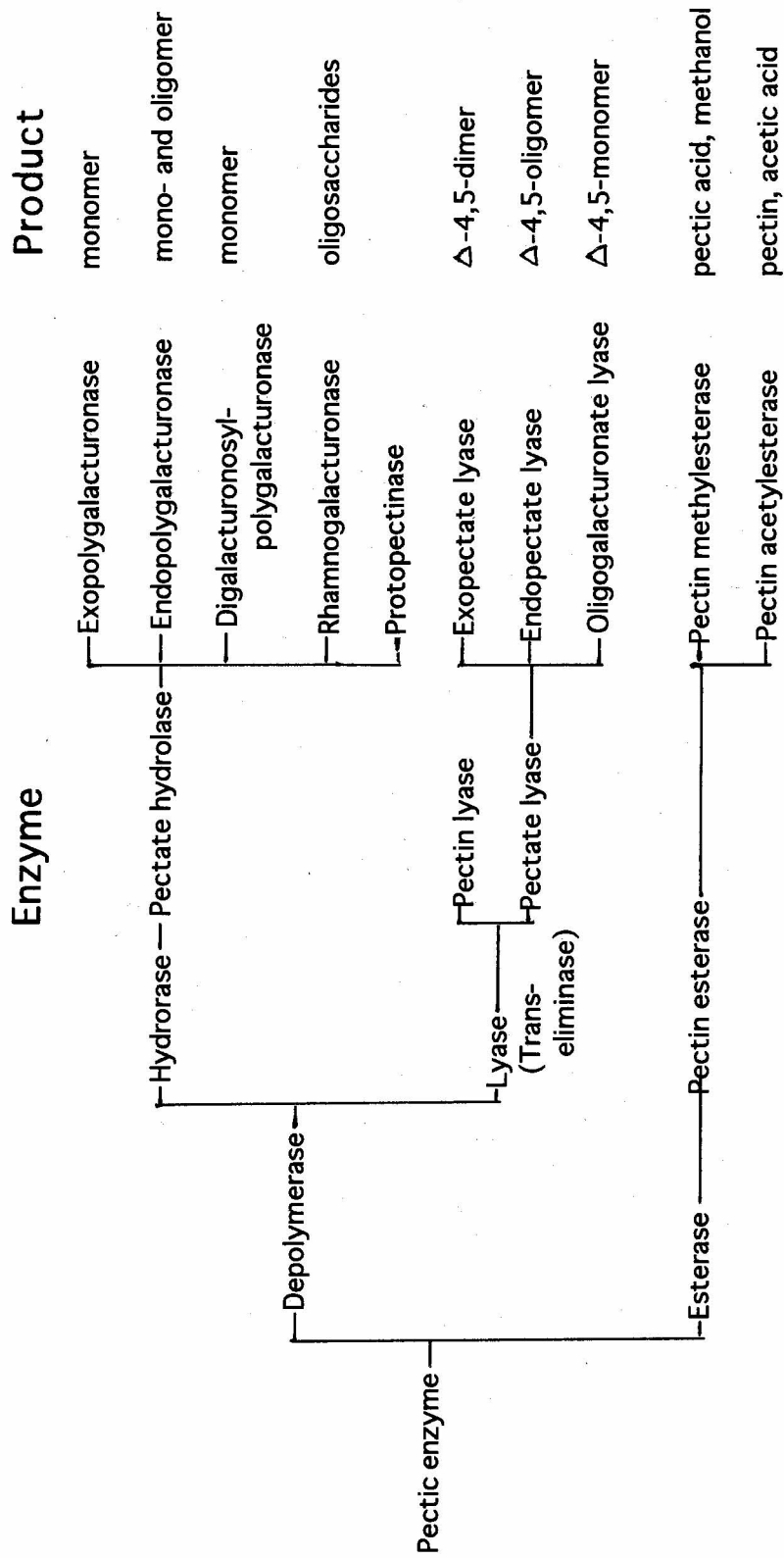


図 12. ペクチン質分解酵素の分類

Δ-4,5-dimer, 4,5-unsaturated digalacturonate; monomer, galacturonate.

表 1. ダイコン、キャベツのペクチン酸ならびに弱酸性ペクチン性多糖の構成糖

		Rhamnose	Fucose	Arabinose	Xylose	Mannose	Galactose	Glucose	Galacturonic acid (mol%)
		(mol/100 mol of galacturonate)*							
RAD-R	WAP-25	3.1	ND	159.9	6.2	9.3	298.1	+	17.3
	WAP-75	5.8	3.3	175.9	10.4	4.1	182.1	+	20.8
	Pectic acid	1.0	ND	10.1	0.4	0.3	7.8	ND	83.6
RAD-L	WAP-25	7.4	10.4	118.8	3.1	4.9	143.4	+	25.8
	WAP-75	3.4	21.8	166.6	2.3	9.9	256.9	ND	17.8
	Pectic acid	1.9	ND	7.2	0.8	1.1	3.4	ND	88.0
CAB-L	WAP-25	9.6	ND	175.9	10.4	+	182.1	+	20.9
	WAP-75	3.5	3.1	208.3	3.5	10.3	343.1	ND	14.9
	Pectic acid	2.1	0.5	18.4	2.2	0.9	13.0	ND	72.9

RAD-R、ダイコンの根；RAD-L、ダイコンの葉；CAB-L、キャベツの葉。WAP-25、シュウ酸塩溶液を用いて25℃において抽出した弱酸性ペクチン性多糖；WAP-75、シュウ酸塩を溶液に用い75℃において抽出した弱酸性多糖。+、痕跡量；ND、検出できない。\*、多糖中のガラクトuron酸のモル数を100モルに設定したとき得られる中性糖のモル数を表す。

表 2. 柑橘類ならびにイチゴペクチン酸の分子構造の特徴

Origin of pectates	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	$\epsilon$
Commercial lemon pectin	38.8	42.1	7.6	2.3	9.2
Natsudaidai peel	36.0	48.3	7.1	0.0	8.6
Banpeiyu peel	27.1	35.8	17.4	11.3	8.4
Unripe-strawberry fruit	13.4	15.2	1.9	52.1	17.4
Ripe-strawberry fruit	21.6	16.7	24.9	22.4	14.4
RG from lemon pectin	1.4	1.7	0.0	0.0	96.9

数値は%。 $\alpha \sim \epsilon$ については図6を参照（松橋等）。

表 3. ダイコンヘミセルロース様ペクチン性多糖の糖組成

Samples	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	GUA	
Root	HCP-I	4.3	5.0	172.7	245.1	4.2	65.2	16.1	19.7
	HCP-II	3.4	10.5	154.5	549.0	5.9	94.5	23.6	10.7
Leaf	HCP-I	11.9	4.3	131.4	61.3	10.2	74.4	10.5	25.0
	HCP-II	5.5	6.0	58.3	583.7	9.1	52.1	23.3	12.0

HCP、ヘミセルロース様ペクチン性多糖；Rha、ラムノース；Fuc、フコース；Ara、アラビノース；Xyl、キシロース；Man、マンノース；Gal、ガラクトース；Glc、グルコース；GUA、ガラクトuron酸。