(昭和34年11月10日受理)

ペーパークロマトグラフィーによる木材および パルプ中のメチルグルクロノキシランの定量^(注)

国策パルプ工業株式会社 戸 田 久 昭
中 央 研 究 所

PAPERCHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF METHYLGLUCURONOXILAN IN WOODS AND PULPS

By Hisaaki Toda

(The Research Laboratory of the Kokusaku Pulp Industry Co. Ltd.,
Kami-Ochiai, Shinjuku-Ku, Tokyo, Japan)

It has been found that the uronic acids fraction produced in hydrolysis of wood meals and pulps consists of 4-O-methyl-D-glucuronopyranosyl-D-xylose (f_2), lacton of f_2 , 4-O-methyl glucuronic acid (f_1) and glucuronic acid (or galacturonic acid) (f_3) (see Fig.1 and 2).

The above fraction was separated from hydrolyzate of birch wood meal, and f_2 , main product of the fraction, was isolated by means of cellulose column chromatographic technique (see Fig.3 and Table 1). Using Somogyi's colorimetric and iodometric methods, reducing power of f_2 corresponds to 32% of that of glucuronic acid (per mol.), while the power of f_1 corresponds to that of glucuronic acid.

f_2 is strongly resistant against hydrolysis, and only 31% is hydrolyzed to monomers by treating with 4% H_2SO_4 in boiling water bath for 9 hrs. (see Fig.4). In total hydrolysis (treated with 72% H_2SO_4 for 1 hr. at 30°C and with 4% H_2SO_4 in boiling water bath for 9 hrs.) of woods and pulps, a large amount (over 70 %) of f_1 -residues in the samples remains as f_2 . In quantitative paper chromatography of methylglucuronic acid-rich xylan, therefore, some xylose residue in f_2 must be added to that of xylan estimated from xylose produced in hydrolysis.

Total amount determined by (paperchromatography) of these uronic acids (f_1 , f_2 and f_3) produced in total hydrolysis agrees almost with that determined by the CO_2 -method (see Table 2).

(Received November 10, 1959)

I 緒 言

木材および木材パルプ中のキシランが 4-O-メチルグルクロン酸側鎖を有するという研究は, J. K. N. Jones¹⁾ がアスペンの加水分解物中に 4-O-メチルグルクロノシル-D-キシロースを確認して以来急速に発展し, その後, ユーカリ²⁾, カバ³⁾, マツ^{4,5)}, ヘムロック材^{7,8)} および種々のパルプ⁹⁾ について研究され, また, ジュートのヘミセルロース¹⁰⁾ についても研究された。しかしながら, 以上の研究はほとんどが構造決定を目的とする部分的加水分解法を用いたものであつて, これを完全に加水分解して定量しようとした試みはまだ見当たらない。

これらのウロナイドは, 前報¹¹⁾ で用いたゴム質, ベクチン類とは異つた加水分解性および還元力などを有するものと考えられるので, この点を明かにするため, 引き

続いて研究を行なつた。

II 実 験 結 果

1. カバ材粉の加水分解生成物

カバ材粉をアルコール・ベンゼン (1:2 v/v) 抽出後, 通常の全加水分解処理 (第1段: 72% H_2SO_4 , 30°C, 1 時間, 第2段: 4% H_2SO_4 , 6 時間煮沸) を行ない, $Ba(OH)_2$ および $BaCO_3$ で中和・加熱・濃縮後ペーパークロマトグラフィーによりウロン酸の分析を行なつた。なお, 展開溶媒には n -ブタノール:ベンゼン:ピリジン:水 10:2:5:5 (溶媒A) および酢酸エチル:酢酸:ギ酸:水 18:3:1:4 (溶媒B) または酢酸エチル:酢酸:水 9:2:2 (溶媒C) を用いた。

結果は第1図のように, 塩基性溶媒Aでは原点付近に留まつたウロン酸バリウム(f)が, 酸性溶媒B (または

Fig. 1 Chromatograms of hydrolysate of birch wood meal.

Solvent A : *n*-butanol-benzene-pyridine-water (10 : 2 : 5 : 5 *v/v*)

Solvent B : ethyl acetate-acetic acid-formic acid-water (18 : 3 : 1 : 4 *v/v*)

* The numbers in the parenthesis indicate time of developing.

C) によつて4ケのスポット ($f_1 \sim f_4$) に分離し、しかも $f_1 \sim f_4$ 物質の還元力の総和は f の還元力とほぼ等しかった。この中、 f_4 殊に f_2 は蓚酸アニリン顯色により、紫外線照射の下でやや赤味がかったオレンジ色の螢光を発した。

なお、第2段目の希酸加水分解時間を更に3~4時間延長すると f_4 物質は全く消失し、また、 f_4 成分を水で抽出後、酸加水分解を行なうと、キシロースと f_2 成分の生成することがペーパークロマトグラフィーにより認められた。更に f_2 成分を単離してから加水分解を行なうと、キシロースと f_1 成分とが生成した(後述)。以上のような螢光性^{8,9)}、加水分解性および各成分の溶媒Bによる R_f 値^{6,12)} から推定すると、 f_1 は4-O-メチルD-グルキユロン酸、 f_2 は f_1 とキシロースとから成るアルドピウロン酸、 f_4 は f_1 と2ケ以上のキシロースとから成るアルドトリまたはアルドテトラウロン酸であり、また、 f_3 はグルキユロン酸(またはガラクトキユロン酸)に相当した。

2. 他の試料の加水分解生成物

トド松材粉を全加水分解(ただし、第2段目の加水分解時間を9時間に延長)した場合に生成するウロン酸は、 f_4 成分が消失する以外は第1図の場合とほぼ同様で、多量の f_2 成分(還元力で全ウロン酸の50~80%)の他に f_1 並びに f_3 成分が認められた(第2図A)。

トド松およびカバ亜硫酸パルプの全加水分解処理の場

Fig. 2 Paper chromatograms of hydrolysates.

合には、生成した全ウロン酸成分の中の f_2 成分の占める割合は更に大きく、還元力でウロン酸全体の70~100%を占め、 f_1 並びに f_3 成分の生成は非常に僅かであった(第2図B)。

以上の試料並びに木粉またはパルプから単離したキシランを、直接4% H_2SO_4 で9時間加水分解した場合にも、 f_1 並びに f_3 成分は極めて僅かしか生成しなかった(第2図C, D)。また、木粉およびパルプの部分加水分解物中には、かなりの量の f_4 成分が認められた。

3. 加水分解液中の酸成分の分離

アルコール:ベンゼン(1:2)抽出後のカバ材粉200g(風乾)に対して72% H_2SO_4 、400mlを加え、充分混和してから30°Cに1時間放置、次に H_2SO_4 濃度4%に希釈後、沸騰湯浴中で9時間加水分解した。加水分解液は $Ba(OH)_2$ と $BaCO_3$ とで中和した後、濾過し、濾液はAmberlite IR-120およびAmberlite IR-4Bの樹脂筒を通過させた。酸成分を吸着したAmberlite IR-4Bは、蒸留水で数日間充分に水洗し、中性糖を除去した後、約1規定の H_2SO_4 を通してカラムに吸着された酸成分を溶出させた。溶出液は $BaCO_3$ で中和・濾過した後、Amberlite IR-120を通してバリウムイオンを除き、次いで約40°Cで減圧濃縮してシラップとした。以上の分離法を第3図に示す。

このシラップを溶媒A並びにBで展開しても中性糖は認められなかったが、 f_1 、 f_2 および f_3 物質の他に、微量ではあるが R_f 値の非常に大きい(グルキユロン酸ラクトンよりもやや大)成分が認められた。この物質は蓚酸アニリン顯色によつて橙赤色の螢光を発すること、お

Fig. 3 Outline of procedure for the separation of uronic acids from hydrolyzate of birch wood meal.

よびその R_f 値¹²⁾から f_2 のラクトンであると推定された。なお、この物質は $BaCO_3$ で中和後の加熱処理によって、ほとんど消失した。

4. メチルグルキユロノシル-D-キシロースの単離

2cmφ×55cm のガラス筒にセルロースパウダー (Whatman 製) を詰め、溶媒Cで充分洗浄してから同溶媒によつて、前記の濃縮液中の酸性糖成分の分別を行なつた。流出液はフラクションコレクターを用いて、5ml ずつ約 200 ケのフラクションを得るまで抽出した。

各フラクションの呈色試験を行なつた後、これを9ケのフラクションにまとめ、それぞれを濃縮した後、ペーパークロマトグラフィーによつて定性的に組成を調べた。第1～3のフラクションには f_1 の他に少量の f_2 が含まれ、単一物質は得られなかつたが、第4～7のフラクションにはほとんど f_2 成分だけしか含まれていなかった。この第4～7のフラクションを集めて減圧濃縮後、エーテル抽出を行なつて溶媒を除去し、更に減圧濃縮を行なつた。得られたシラップに約 20 倍量のエタノールを加えたが、結晶の生成は認められなかつたので、再び濃縮してエタノールを除いてから少量の水で抽出した。収率は絶乾換算 940mg であつた。

この試料を溶媒AおよびBで展開した結果は第4図Aのように f_2 物質の他には痕跡程度の f_3 成分が含まれているのに過ぎなかつた。また、溶媒Bによる f_2 の R_f 値は 4-O-メチルグルキユロノシル-D-キシロースの R_f

Fig. 4 Paper chromatograms of isolated f_2 (methylglucuronocyl-D-xylose) and hydrolyzate of it (only 31% of f_2 was hydrolyzed to monomers by treatment with 4% H_2SO_4 in boiling water bath for 9 hrs).

値^{5,12)}とほぼ一致し、また、このアルドビロン酸と同じ螢光反応^{3,9)}をも示した。更にこの f_2 試料のメトキシル含量および脱炭酸率の測定結果 (第1表) から、 f_2 成分が 4-O-メチルグルキユロノシル-D-キシロース*であることは疑いない。

次に、この f_2 試料の還元力を Somogyi 氏のミクロ比色法¹³⁾およびヨードメトリー¹⁸⁾にて測定したが、グルキユロン酸やガラクトキユロン酸の還元力¹⁴⁾よりも非常に小さく、1モル当りの還元力はグルキユロン酸のその僅か 32% にしか過ぎなかつた。

なお、 f_3 成分がグルキユロン酸であるかガラクトキユロン酸であるかに関しては、いずれの試料の加水分解物中にも比較的小量であること、および両ウロン酸の還元力に大差のないこと¹⁴⁾のために深く追求はしなかつた。

Table.1 Analytical data for the f_2 fraction

	Experimental %	Theoretical % for methyl glucuronosyl-D-xylose ($C_{12}H_{20}O_{11}$)
Methoxyl	8.8	9.1
Glucuronic acid (CO_2 -method)	58.6	57.1

5. メチルグルキユロノシル-D-キシロースの加水分解抵抗性

前述の方法で単離したメチルグルキユロノシル-D-キシロース (f_2) を 4% H_2SO_4 で加水分解し、生成物をペーパークロマトグラフィーによつて分析した (第4図

* Jones ら¹⁾および Saarnio ら⁹⁾によれば、この物質は 2-O-(4-O-methyl- α -D-glucuronopyranosyl)-D-xylose である。

Table.2 Analytical results of uronic acid and xylan content in wood meals and pulps

Sample	Uronic acid % (as methyl glucuronic acid)		Xylan %	Uronic unit/ Xylose unit
	paper chromatography	CO ₂ -method	paper chromatography	
Wood meal of birch	3.80	3.92	25.3	1:10~10.5
Wood meal of fir (Abies Mayriana)	2.68	2.88	5.4	1:3~3.2
Sulphite pulp from birch	1.25	1.25	13.6	1:17
Sulphite pulp from fir (Abies Mayriana)	1.37	1.28	3.9	1:4.5~4.8
Desolved sulfite pulp from fir	—	0.20	3.0	1:24

B)。この f_2 は、前報¹⁰⁾でのアラビアゴムの加水分解中に生成したアルドビウロン酸と比べて、加水分解抵抗性が一層大きく、6および9時間の加水分解(4% H_2SO_4 , 100°C)によつて、それぞれ 24.1 および 31.0% だけしか分解されなかつた。なお、この処理によつては理論量のキシロースと他に f_1 成分だけが新たに生成した。溶媒Bによる R_f 値^{5,12)}からも、 f_1 成分が 4-O-メチルグルキロン酸であることが確認された。

更に、 f_2 の加水分解消失量から f_1 の理論生成量(ただし、加水分解処理中の崩壊率はグルキロン酸のそれ¹¹⁾と等しいとした)を求め、また、 f_1 部分の還元力を測定した結果、 f_1 のモル当りの還元力がグルキロン酸の還元力とほぼ等しいことがわかつた。

6. ペーパークロマトグラフィーと炭酸ガス発生法とによるウロン酸定量値の比較

以上のようにペーパークロマトグラフィーによつて木材、パルプまたはヘミセルロース中のウロン酸(主としてメチルグルキロン酸)を分析する場合には、加水分解によつて生成したメチルグルキロノシル-D-キシロースのモル当りの還元力が、ウロン酸モノマーのそれに比べて非常に小さいため、ウロン酸全体の還元力だけから、これをグルキロン酸(またはメチルグルキロン酸)として計算しようとする、値が過小になつてしまう。したがつて、全加水分解後の試料について f_1 , f_2 および f_3 をそれぞれ定量するか、また溶媒Aで展開後の全ウロン酸(f)の還元力と、更に酸性溶媒(BまたはC)で展開後の f_2 の還元力とを測定し、これから全体のウロン酸含量を算出しなければならない。

このような方法で定量した木粉およびパルプ中のウロン酸含量を、炭酸ガス発生法で求めた値と比較すると、第2表のようになかなりよく一致した結果が得られた。

7. ペーパークロマトグラフィーによつて求めたキシランの測定値の補正

カバおよびトド松材粉の全加水分解処理液中におけるメチルグルキロノシル-D-キシロースの還元力が、全ウロン酸の還元力の 50~80% を占め、パルプ試料の場合には更にこの割合の増加(70~100%)することは上に

述べた。すなわち、木材キシラン中のメチルグルキロン酸基の 70% 以上(サルファイトパルプの場合には約 85% 以上)がモノマーにまで加水分解されず、上記のアルドビウロン酸の形で残存していた。

このことは、メチルグルキロン酸基にほぼ相当する数のキシロース残基が単糖にまで加水分解されないことで、したがつて、ペーパークロマトグラフィーによるキシランの測定値が実際の値より下回る結果となる。メチルグルキロン酸基を含まないか、またはその含有量の少ないキシラン(例えば、クラフトパルプ、溶解用パルプなど)の定量の際には問題はないが、殊に針葉樹材粉のような高ウロン酸含有キシラン(第2表参照)の定量の際には、キシランの中でキシロースにまで加水分解されなかつた量を補正する必要がある。補正の方法としては、ペーパークロマトグラフィーによつて求めたメチルグルキロノシル-D-キシロースの中のキシロース残基の量を加算するのが妥当であるが、炭酸ガス発生法によつて求めたウロン酸量に相当する数のキシロース残基量を加えてもこれと大差ないものと思う。

III 総 括

木粉を酸加水分解することにより、メチルグルキロン酸、メチルグルキロノシル-D-キシロース、グルキロン酸(またはガラクチュロン酸)などの生成することを確認し、また、これらの物質の還元性について研究を行なつた。

木粉、パルプおよびキシランの全加水分解液中のこれら成分を、ペーパークロマトグラフィーによつてそれぞれ定量し、総計することにより、通常の炭酸ガス発生法によつて求めたウロン酸含量と近似した値が得られた。

なお、キシラン中のメチルグルキロン酸基は加水分解に対する抵抗性が大きく、通常の全加水分解処理ではメチルグルキロン酸基の 70% 以上が 4-O-メチルグルキロノシル-D-キシロースの形で留まり、モノマーにまで分解されるものは僅かである。したがつて、高ウロン酸含有キシランをペーパークロマトグラフィーによつて定量する場合には、このアルドビウロン酸の中に含ま

れているキシロース残基の量を加算する必要がある。

本研究に際し御指導を賜わった東京大学農学部右田伸彦教授、並びに国策パルプ工業株式会社軒原栄三博士に深く感謝する。

本報告の一部は 1958 年 5 月繊維学会講演会で発表した。

文 献

- 1) J. K. N. Jones, L. E. Wise ; *J. Chem. Soc.*, 2750, 3389 (1952)
- 2) C. M. Stewart, D. H. Foster ; *Nature*, 171 (1953)
- 3) J. Saarnio, K. Wathén, C. Gustafsson ; *Acta Chem. Scand.*, 8, 825 (1954)
- 4) A. Roudier, L. Eberhard ; *Compt. Rend.*, 240, 2012 (1955)
- 5) A. Roudier, L. Eberhard ; *Tappi*, 38, No. 9,

156 A (1955)

- 6) D. H. Ball, J. K. N. Jones, W. H. Nicholson, T. J. Painter ; *Tappi*, 39, 438 (1956)
- 7) G. G. S. Dutton, F. Smith ; *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 2505 (1956)
- 8) J. K. Hamilton, H. W. Kircher, N. S. Thompson ; *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 2508 (1956)
- 9) J. Saarnio, K. Wathén, C. Gustafsson ; *Paperi ja Puu*, 36, 209 (1954)
- 10) P. B. Sarkar, A. K. Mazundar, K. B. Pal ; *Text. Res. J.*, 22, 529, (1952)
- 11) 戸田久昭 ; 本誌, 16, 719 (1960)
- 12) D. J. Brasch, L. E. Wise ; *Tappi*, 39, 581 (1956)
- 13) M. Somogyi ; *J. Biol. Chem.* 195, 19 (1952)
- 14) 戸田久昭, 浜田忠平 ; 紙パ技協誌, 11, 429 (1957)

注) 本研究を木材およびパルプ中の多糖類に関する研究第 4 報とする。