蔬菜中の炭水化物に関する研究 (第7報)

Studies on the Carbohydrates in Vegetables (Part 7)

ヘミセルロースのアセチルおよびメチル誘導体の調製

Preparation of acetyl and methyl derivatives from hemicellulose

(昭和 42 年 9 月 7 日 受理)

榎 光 章 佐 藤 幸 夫
(Mitsuaki Maki) (Yukio Sato)

Acetyl and methyl derivatives of galactoxylan were isolated from *Artemisia Capillaris*, and their chemical properties were investigated. On hydrolysis, methylgalactoxylan gave 2,3,4-trimethylxylose, 2,3-dimethylxylose, and 2,3,6-trimethylgalactose and 2,3-dimethylgalactose. Galactoxylan gave galactoxylotriose, galactoxylotetraose, xylotriase and xylobiose. It was thus concluded that galactoxylan consisted of four parts of xylose and one part of galactose at a uniform rate. In the decomposing sugars, 2,3,4,6-tetramethylgalactose or monomethylxylose disappeared. Galactose seemed to be at the position with side linkage without the last position on the structure. In comparison of their reducing activity, however, both 2,3-dimethylxylose and 2,3,4-tetramethylxylose were twice as active as 2,3-dimethylgalactose. Consequently, it was made clear that galactose with side linkage occupied one third of the whole galactose. Summarizing the facts mentioned above, the authors proposed a structural form of the galactoxylan.

緒 言

先に報告¹⁾したようにヨモギ葉より分離したヘミセルロースはキシロースとガラクトースを主要構成糖とするガラクトキシランであり、相当複雑な構造を有することが予測された。

ガラクトキシランの存在については西田²⁾, Schmidt³⁾らはブナ木材のペントーザンについて検出した報告があるが、ヨモギ葉について未だ調査されていない状態である。かかる現況からヘミセルロースの構造を明確化する検索の手段として、アセチル化およびメチル化を行なってそれぞれの誘導体の性質を調査すると共に、メチル誘導体についてはその加水分解物中のメチル糖をベークロマトグラフで検出した結果、構造に関する知見を得たのでその成績について報告する。

実 験

1. 試料の調製

ヨモギ葉粉末 500 g を 2% アンモニア水 10 l に 48 時間浸漬後水で十分洗滌し、再び 5% 苛性ソーダ溶液 10 l に 48 時間浸漬し、その抽出液に等量の 95% エタノールを注加して沈澱物を得、2% 苛性ソーダにとかしてアル

コールによる再沈澱を 5 回繰返し、最後の 2% 苛性ソーダ溶液にとかしたものに過剰のフェーリング液を加えて銅結合物として沈澱させ、遠心分離で集め、フェーリング液の稀釈液でよく洗滌してから稀塩酸で中和して銅を除去し、エタノールで 5 回洗滌して酸、銅の除去を行ないデシケーターで乾燥した。その化学組成は第 1 表に示す通りリグニンの含有が多いのでその除去のため 50% エタノール 1% 苛性ソーダ溶液に浸漬し、冷却器を附して沸騰浴上 2 時間処理を行ないさらにその残渣を醋酸緩衝液 (pH 4.5) に浸漬してから試料の 1/2 量の NaClO₂ を加えて同様沸騰浴上で処理し、遠心分離で不溶残渣を集め、エタノールでよく洗滌して白色のガラクトキシランを得、誘導体調製の試料に供した。その化学組成は第

第 1 表 試料の化学組成

水	分	8.219
粗	灰	3.452
全	糖*	46.114
粗	蛋 白	5.977
リ	グ ニ ン**	27.816

* ベルトラン法 (キシロースとして表示)

** Klason-Ost 法

第2表 試料の化学組成（無水物%）

全	糖*	94.085
粗 蛋 白 質		0.213
リ グ ニ ン**		2.014
粗 灰 分		1.273

* ベルトラン法（キシロースとして表示）

** Klason-Ost 法

2 表に示す通りである。

2. アセチルおよびメチル誘導体の調製

ポリサッカライドのアセチル化には醋酸ソーダー無水醋酸法、ビリジン-無水醋酸法、Barnett の触媒法⁹⁾ などがあるが、Barnett 法ではアセチル化したものが反応の途中に強加水分解受けるといわれ、ビリジンよりも醋酸ソーダーの中で膨潤し易いため醋酸ソーダー無水醋酸法を試みることにした。

ガラクトキシラン 1 g に無水醋酸ソーダー 10 g と無水醋酸 40 cc を加え塩化カルシウム管を附して沸騰浴上 5 時間攪拌しながら加熱後、冷水中に注入して生ずる白色沈澱を遠心分離で集め、十分冷水で洗滌乾燥後 200 cc のクロロホルムにとかし、この時の不溶物を遠心分離で集めて前記同様アセチル化を行なった。水野¹⁰⁾ はヒガンバナマンナンについて完全アセチル化に 5 回処理しているが、この場合は 5 回の処理で完全アセチル化ができた。このようにして得たクロロホルムの溶液を減圧濃縮し、3 倍容の 95% エタノールを加えて生ずる沈澱を集め、アルコール・エーテルの順に洗滌乾燥を行ない収量 1.2 g であった。これは白色無味無臭でアセトン・クロロホルム・無水醋酸に可溶、アルコール・エーテルに不溶でフェーリング液を還元しなかった。 CH_3CO 基の含量は 45.9% であり、 $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2(\text{COCH}_3)_2$ としての理論値 46.7 % に近似しジアセチル誘導体と推定した。

次にアセチル化したガラクトキシラン 1 g をアセトン 20 cc にとかし、50°C の湯浴上で攪拌しつつ 30 % 苛性

ソーダ 36 cc 並びにジメチル硫酸 26 g を交互に滴下してメチル化を行なった。滴下終了後は湯浴温度を 100°C に上昇させてアセトンを蒸発させ、生ずるメチル化物を遠心分離で集め水洗後乾燥した。乾燥後アセトンに再びとかし同様メチル化を 15 回実施した。このようにして得られたメチル化ガラクトキシランを 10 倍容のクロロホルムにとかし、この溶液を減圧濃縮して石油エーテル中に注入して生ずる沈澱を集め、このような操作を 5 回実施して乾燥を行ない白色のメチル誘導体 0.7 g を得た。これは白色無味無臭物でフェーリング液を還元せず、アセトン・クロロホルムに可溶、アルコール・エーテルに不溶で CH_3O 基の含量は 37.4% であり、 $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2(\text{OCH}_3)_2$ としての理論値 38.8% に類似した。この結果よりジメチル誘導体と推定した。

3. アセチル誘導体の脱アセチル化

アセチル化物 0.73 g をアセトン 20 cc にとかし 45% 苛性カリ溶液 20 cc を加え、冷却器を附して沸騰浴上で 2 時間加熱すると、水層部が粘性を帯び脱アセチル化した多糖類がこの方に移ることから、水層部を分離して 5 倍容のエタノールを加えるとゴム状沈澱を生じ、遠心分離で集めて水 10 cc にとかし、再びエタノールを注加して再沈澱を繰返して乾燥し脱アセチル化物 0.60 g を得た。今 $\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2(\text{CH}_3\text{CO})_2 \rightarrow \text{C}_3\text{H}_5\text{O}_2$ に変化すると仮定すると脱アセチル化物はアセチル化物の 81.52 % に当たり、従って 0.595 g になるはずであり近似した。こうした事象より考察するに、ガラクトキシランはおそらく完全に近い状態にアセチル化されていると認定した。

4. メチル誘導体加水分解物の PPC

メチル化物 0.1 g を 5 % 硫酸 10 cc と共に封管中で 140°C、3 気圧下に 2 時間加水分解し、その分解液に過剰の炭酸カルシウム末を加えて中和し、減圧濃縮乾固した。これをクロロホルムで 3 回温抽出し、クロロホルムを留去後得られたシラップについて PPC を試みた。その結果は第 3 表に示す通りである。

第3表 メチル化ガラクトキシランの加水分解産物の検出

試料		Rf		呈色	
		ブタノール，醋酸，水 (4：1：1)	ブタノール，エタノール，水上層 (5：1：4)	アニリンフター酸溶液	アンモニア性硝酸銀エタノール溶液
メチル化ガラクトキシラン		0	0	—	—
加水分解産物	スポット 1	0.78	0.88	+	+
	スポット 2	0.64	0.69	卅	卅
	スポット 3	0.72	0.76	+	+
	スポット 4	0.58	0.52	+	+

東洋濾紙 No. 50 40×6 cm, 40×2 cm, 上次元上昇法

第 4 表 加水分解産物の PPC のスポットの還元量的比率

種 類	ス ポ ッ ト	還元力の比率	還 元 力 %
2, 3, 4 トリメチルキシロース	スポット 1	17	11.42
2, 3 ジメチルキシロース	スポット 2	100	66.34
2, 3, 6 トリメチルガラクトース	スポット 3	21	13.87
2, 3 ジメチルガラクトース	スポット 4	13	8.37

メチル化ガラクトキシランの加水分解産物として4種のメチル糖が検出された。これらを文献値⁶⁾⁷⁾と比較して同定すると大部分は2,3-ジメチルキシロース(スポット2)であり,次に2,3,6-トリメチルガラクトース(スポット3),2,3,4-トリメチルキシロース(スポット1),2,3-ジメチルガラクトース(スポット4)の順となった。濾紙切り法に従って各スポット毎に截切して還元力をSchaffer-Somogyi⁹⁾法により定量しスポット2を100として表示した。その結果は第4表に示す通りである。

還元力の比率より考察するに,ガラクトキシランはキシロース4分子とガラクトース1分子より構成し,おそらく1-4結合をなす多糖類とみなされた。メチル化したガラクトキシランの加水分解産物として2,3,4-トリメチルガラクトースが確認されて2,3,4,6-テトラメチルガラクトースを確認できない事象から,ガラクトース残基が末端基として存在しないことが判明した。また2,3-ジメチルガラクトースが確認されることから,ガラクトキシラン分子中に分枝構造が存在し,その枝はガラクト

ース基より出ていることが考えられた。2,3,6-トリメチルガラクトースが2,3-ジメチルガラクトースの2倍程度存在することからして,ガラクトース残基の約1/3は枝分れにあずかっていることが伺われた。なおモノメチルキシロースが検出されないことからしてキシロース基より枝分れは考えられなかった。

5. ガラクトキシランの中間加水分解産物

ガラクトキシランを鉱酸で分解するとキシロースとガラクトースを生ずるが,どのようなオリゴ糖を経て分解されるか構造の一手がかりを得るため次の実験を行なった。

まずガラクトキシラン粉末1gを50%硫酸20ccに溶解し,密栓して冷蔵庫に放置して徐々に加水分解を進行させ,一定時間毎に1cc宛採取して水10cc注加稀釈後炭酸カルシウム末で中和し,その濾液を減圧濃縮乾固させて80%エタノールで温抽出し,エタノールを溜去して得たシラップについてPPCを試みた。その分解状況は第5表に示す通りである。

第5表 加水分解状況

糖の種類	スポットのRf	時 間					
		2時間	5時間	10時間	15時間	20時間	48時間
キシロース	0.40	+	+	++	++	++	++
ガラクトース	0.27				+	+	+
オリゴ糖	0.18			±	+	++	++
	0.12				±	++	++
	0.06			±	+	++	++
	0.02	±	+	+	+	++	+

展開剤:ブタノール, 醋酸, 水(4:1:1), 3回多展展開

以上の結果より,ヨモギ葉ヘミセルロースの主成分であるガラクトキシランからは4コのオリゴ糖が検出され,スポット3はキシロビオース,スポット4はキシロトリオース,スポット5とスポット6はキシロース・ガラクトースを構成糖とするガラクトキシロトリオース・ガラクトキシロテトラオースのオリゴ糖であることを知り,従ってガラクトキシランはキシロース4分子に対しガラクトース1分子の割合に均一的に結合した多糖類の

構造を示すことを再確認した。

総 括

ヨモギ葉より分離したガラクトキシランの完全メチル誘導体を作り,その分解産物であるメチル糖を検索するに2,3,4-トリメチルキシロース,2,3-ジメチルキシロース,2,3,6-トリメチルガラクトース,2,3-ジメチルガラクトースの4スポットのみが検出され,しかも2,3-ジメ

栄 養 と 食 糧

第6表 加水分解中間産物の構成糖

スポット	Rf	構 成 糖	スポットの分解前後の還元力の比率		糖 の 種 類
			前	後	
スポット 1	0.40	キシロース	100	100	キシロース
スポット 2	0.27	ガラクトース	17	16	ガラクトース
スポット 3	0.18	キシロース	53	121	キシロビオース
スポット 4	0.12	キシロース	13	41	キシロトリオース
スポット 5	0.06	キシロース, ガラクトース	5	21	ガラクトキシロトリオース
スポット 6	0.02	キシロース, ガラクトース	2	12	ガラクトキシロテトラオース

多重上昇展開3回, 呈色剤: アンモニア性硝酸銀, アニリンフタル酸溶液

チルキシロースおよび2,3,4-トリメチルキシロースの総還元力が2,3,6-トリメチルガラクトース, 2,3-ジメチルガラクトースの4倍の作用力を呈示し, それにガラクトキシランの酸分解中間産物の検索にてガラクトキシロトリオース・ガラクトキシロテトラオース・キシロトリオース・キシロビオースが得られ, その結果ガラクトキシラン分子中ではキシロース4分子とガラクトース1分子の割合にて構成されていることを知り, さらに2,3,4,6-テトラメチルガラクトースが検出されない点より見るとガラクトースは末端基として存在しないで枝分れ部にあずかっていることを知り, キシロースが枝分れに関与しないことはモノメチルキシロースが得られないことよりも察せられた。また2,3,6-トリメチルガラクトースが2,3-ジメチルガラクトースの2倍量存在することより, ガラクトース全部が枝分れに関与せずに1/3のガラクトースが関与していることも判明した。

以上の諸事象よりヨモギ葉のガラクトキシランの構造を第1図のように想定した。

第1図 ガラクトキシランの構造

X: キシロース G: ガラクトース

本研究は昭和42年7月22日日本農芸化学会東北支部例会で研究講演した。

文 献

- 1) 榎 光章, 佐藤幸夫: 本誌, **21**, 4 (1968)
- 2) 西田屹二, 高木徳一: 繊維工業, **6**, 170 (1930)
- 3) Schmidt, E.: *Cellulose Chem.*, **11**, 49 (1930)
- 4) 三崎旭, 東登志彦, 寺本四郎: 発工誌, **36**, 5, 181 (1958)
- 5) 水野卓: 日農化誌, **31**, 2, 138 (1957)
- 6) 倉沢文夫, 山本幸正, 伊賀上郁夫, 中村寧: 日農化誌, **30**, 10, 624 (1956)
- 7) 倉沢文夫, 山本幸正, 伊賀上郁夫, 中村寧: 日農化誌, **30**, 11, 696 (1956)
- 8) Schaffer, P. A., Somogyi, M.: *J. Biol. Chem.*, **190**, 695 (1933)

(米沢女子短期大学)