パルプ中の多糖類に関する研究

第1報 パルプ中の多糖類組成定量のための* 全加水分解条件の検討

戸田 久昭・浜田 忠平**

Studies on Polysaccharides in the Pulp

Part 1. Investigations of Conditions in Total Acid Hydrolysis for Determination of Polysaccharides in Pulp.

Hisaaki Toda and Tadahira Hamada

In order to determine the composition of polysaccharides of pulp, E. Hägglund proposed a procedure of total hydrolysis of pulp, and later various modified procedures of his one were applied by many investigators. In the present paper, occurrence and decomposition of monosaccharides during the total hydrolysis have been investigated by means of paper chromatographic technique.

From this investigation, it has been found that a procedure of total hydrolysis is enough to complete the hydrolysis of cellulose, which consists of a primary hydrolysis for 1 hr. at 30°C with 72 % H_2SO_4 and a secondary one for 6 hrs. with boiling diluted (4.0 %) H_2SO_4 . But hydrolysis of xylan and mannan had already been completed within 4 hrs. secondary hydrolysis.

When much glucose in hydrolysate interfere the spot of mannose on the paper strip, it is recommended to use glucose oxidase, 10 mg of which can oxidize 10 and 50 mg of glucose within 5 and 20 hrs. respectively (pH 7.0, 37°C).

Water soluble polysaccharides (γ -cellulose) in pulp were completely hydrolyzed by boiling with 4 % H_2SO_4 for 8 hrs. In this case hydrolysis of xylan was also easier than that of mannan and glucan.

1. 緒 言

木材及びパルプの多糖類組成に関しては古くから多くの研究が行われており、これを測定するには通常パルプを全加水分解して得られた単糖類を分離定量している。

全加水分解には Hägglund 法並にその変法が一に般に用いられており、その内の主なものとして第1表示する方法が挙げられる。これらはいずれも加水分解を2段に分けて行っているが、それぞれ酸濃度、温度、時間などがかなり異っているので一応これを検討し、加水分解過程における糖類の挙動をペーパークロマト

第1表 硫酸による各種の加水分解法

加 水 分 解		研 究 者
前 段	後 段	
72 % H_2SO_4 室温 4 時間	3.5 % H_2SO_4 に 稀釈 6 時間煮沸*	E. HÄGGLUND (1) J. SUNDMAN & C. GUSTAFSON (2)
72 % H_2SO_4 室温 17~18 時間	" "	江口、和田。(3)
72 % H_2SO_4 室温 2 時間	3.0 % H_2SO_4 4 時間煮沸	J.R. SIMONS (4)
72 % H_2SO_4 30°C 45~60 分	4.0 % H_2SO_4 4.5 時間	J.F. SAEMAN & E.E. HARRIS (5)
" "	4.0 % H_2SO_4 15±1 psi 1 時間	J.F. SAEMAN & E.E. HARRIS (5) J.F. SAEMAN et al. (6)

* E. Hägglund 法では 3.5 % H_2SO_4 に稀釈し 6 時間放置後 6 時間煮沸

* 原稿受付 32.12.5

** 国策パルプ工業 KK. 農林科学研究所

グラフィーにより観察した。

2. 処理並びに測定法

(1) パルプの全加水分解

十分に粉碎したパルプ 0.3g に 72 % H_2SO_4 3cc を加えてガラス棒で充分に攪拌し、20~25°C で 2~18 時間または 30°C で 1 時間保つ。その後これを H_2SO_4 濃度 3.5~4.0 % になるまで稀釈してから沸騰湯浴中で 0~8 時間処理する。

(2) 糖液の中和及び濃縮

加水分解によって得られた糖液はアンパーライト IR 4B を用いて中和し、液を濾過後樹脂 (IR 4B) を水で充分に洗滌し、ついで濾液及び洗液を 1~3cc にまで濃縮する。濃縮は低温で行う方が安全であると思われるが、確実に pH 5~7 に保っておけば非常に鋭敏な糖であるキシロースでさえも 100°C で殆んど分解を起すことなく濃縮できる。例えば 0.05 % のキシロース水溶液 300cc. を 1cc. にまで濃縮し、これを更に 300cc. にまで稀釈後再び 1cc. にまで濃縮した場合でも糖の分解は認められなかった。

(3) 糖の定量並にグルコースオキシダーゼの利用

ペーパークロマトグラフィーによって糖を定量した⁽⁷⁾。展開溶媒として n-ブタノール・ベンゼン・ピリジン・水(10:2:5:5 v/v)を用いて 3 段展開を行う

しか生成されず、マンノースの生成割合も低くて一部は硫酸と附加化合物を造っていることが考えられるが、大部分は寡糖類の形で残っているようである。一方、キシランは既にその80%が単糖類にまで加水分解されている。これに引続いて後加水分解を行うとキシロースは2~3時間で最高値に達しその後は専ら崩壊が起るために量が漸減する。一方マンノースは4時間で、グルコースは6時間でほぼ最高値に達するが、まだ1%前後のセロビオースが検出されている。

これらのヘキソースは更に苛酷な処理、例えば6~18時間の前加水分解を行っても収率に大差は認められず、セルロースの場合にはむしろその中間生成物たるセロビオースの完全加水分解により、極めてわずかであるがグルコース収率の向上が認められる。然しキシロースは前加水分解時間の延長によっても非常に崩壊され易く、例えば後加水分解時間を6時間に一定として前加水分解時間を2~18時間に変化させると収率において20%以上の差を生じた(第3図)。

なお、前加水分解を25°Cで、後加水分解を4%の H_2SO_4 濃度で行ったがほぼ同様の結果が得られた。

(2) 前加水分解 30°C の場合

以上のようにそれぞれの多糖類によって加水分解最適所要時間が異なるが、セルロースまでもほぼ完全に加

第5図 とよ松未晒パルプの後加水分解

30°C 1時間前加水分解後
生成糖の対パルプ収率(%)

第4図 白樺未晒パルプの後加水分解

30°C 1時間前加水分解後
生成糖の対パルプ収率(%)

水分解するにはこの方法では通常10時間(前加水分解4時間、後加水分解6時間)を要する。

前加水分解を30°C 1時間、後加水分解にオートクレーブを用いて15±1 PSIで1時間行う方法は確かに時間の短縮にはなるが、最高圧力にまで上昇させる時間、最高圧力の調節、冷却時間などをかなり厳密に規制しないと普通のオートクレーブでは殊にキシロースに関してなかなか一定した値が得られず、また、前後の処理が煩雑であった。

前加水分解を30°C 1時間、後加水分解は4% H_2SO_4 濃度で沸騰湯浴中で行うと、グルコース、マンノース、キシロースの生成は前述の20°C前加水分解4時間の場合と殆んど同じ経過をたどり6時間の後加水分解によってセルロースもほぼ完全に加水分解され、またキシロースの崩壊も比較的少量であった(第4図)また、と松SPをこの方法で加水分解した時にも同じような結果が得られた(第5図)なお、いずれの場合でも中間生成物としてセロビオースが定量されたが、他の寡糖類は少量のためか検出定量することができなかった。

以上のようにセルロースを完全に加水分解するためには20~25°Cで前加水分解時間を多少長くしても後加水分解に約6時間を要し、加圧法では後加水分解を

第1図 グルコース オキシダーゼの作用

とキシロース、マンノース、グルコースは比較的良好に分離するが、グルコース量が非常に多いために濾紙への塗布 (spotting) 量を多くするとクロマトグラムのマンノースとグルコースとの境界部分が重なり易い。このような時にはグルコースオキシダーゼ (glucose oxidase) を作用させるとグルコースだけを選択的に除去することができる。

例えば、グルコース、マンノース、ガラクトース、キシロース及びアラビノース各10mgをそれぞれ10ccのM/10 磷酸緩衝液 (pH 7.0) に溶かし、これに10mgのグルコースオキシダーゼ (Takamine Labor-

atory 製) を添加して37°Cに保つと、第1図aのようにグルコースは5時間以内で消滅したが他の糖は24時間経過後も殆んど分解されずに残存していた。更に第1図bのごとく、グルコース量を50mgとすると約20時間以内で完全に酸化され、100mgの場合には30時間でほぼ完全に酸化された。

3. 実験結果並に考察

(1) 前加水分解20°Cの場合

白樺末晒 SP を NaClO_2 処理して得たホロセルロースを試料とし、72% H_2SO_4 によって

20°Cで2, 4, 6及び18時間前加水分解しついで H_2SO_4 濃度3.5%に稀釈してから沸騰湯浴中で処理すると第2図のように単糖類が生成する。即ち2~4時間の前加水分解だけではグルコースはセルロースの2~6%

第3図 前加水分解の影響
生成糖の対パルプ収量(%) 第2図 日産キセルパルプの後加水分解
生成糖の対パルプ収量(%)

第2表 全加水分解時における残存糖量

No.	加 水 分 解 処 理		残 存 率 %				
	前加水分解	後加水分解	グルコース	マンノース	キシロース	ガラクトース	アラビノース
1	72% H ₂ SO ₄ 20~25°C 4時間	3.5% H ₂ SO ₄ 間煮沸	100	97.9	91.2	99.5	97.2
2	72% H ₂ SO ₄ 20~25°C 18時間	"	98.0	95.3	72.0	—	—
3	72% H ₂ SO ₄ 30°C 1時間	4.0% に希釈 6時間煮沸	100	98.3	91.4	99.5	98.6
4	"	" 4時間煮沸	100	—	98.3	—	—

1時間に短縮できるがキシロース収量の調整にかなりの注意を要する。然し前加水分解温度を 30°C に上昇させるだけでも全加水分解時間をかなり短縮でき、キシロースの崩壊も比較的少なくてすむようである。

(3) 単糖類の崩壊率

以上の処理の際生成した単糖類がどの程度崩壊されるかを調べるため、精製した各単糖類 100mg に上記の全加水分解処理を行わせてそれぞれの残存糖量を定量した。

その結果第2表の No. 1 及び No. 3 の方法では最も不安定なキシロースでさえも 90% 以上が残存しており、他の糖はいずれも 97% 以上が残っている。然し実際にはこれらの糖は処理の最初から生成しているのではなく、また糖の分解生成物が他の糖の崩壊に対しても触媒的に働くなどのことが考えられるが、一応第2表の値を全加水分解の際生成した糖の残存率と考えて大差ないものと思う。

これらの糖の残存率と第2、4および5図とを比較すると、キシランはいずれの加水分解法によっても後加水分解約3時間以内で、マンナンも約4時間以内で完全に加水分解されていることがわかる。従ってキシランやマンナンのみの加水分解のためには No. 4 の方法、即ち後加水分解4時間で充分である。

(4) 水溶性多糖類の加水分解

パルプ中の多糖類でも水に不溶の例えば β -セルロースに属するものを完全に加水分解するにはパルプの場合と同様な方法を用いなければならないが、 γ -セルロースに属する低分子の水溶性多糖類は常圧の稀酸処理だけでも完全に加水分解することができる。

例えば、とど松 SP から分離した γ -セルロースを 72% H₂SO₄ で 30°C 1時間処理した後、H₂SO₄ 濃度 4% として煮沸した場合と、72% H₂SO₄ 処理を省略した場合とを比較すると、第6図のように8時間稀酸で加水分解することによってほぼ同じ値に達する。この場合にもキシランが最も加水分解され易く、マンナンがこれに次ぎ、グルカンは最も加水分解され難い。

稀酸加水分解処理の場合グルコースとマンノースの

第6図 とど松未晒パルプの γ -セルロースの加水分解

(供試 γ -セルロースは絶乾 33 mg)

—— 前加水分解処理を行ったもの
----- " " 行わぬもの

第7図 キシロースの崩壊
4% H₂SO₄ と煮沸した場合

崩壊は殆んど認められないが、キシロースは第7図のように時間とともに漸時崩壊し、8時間で約90%にまで減少した。

4. 総 括

(1) パルプの多糖類組成の定量に用いる E. Hägglund の全加水分解法及びその変法による処理条件を

検討するため、各加水分解行程における単糖類の生成と、生成した単糖類の崩壊をペーパークロマトグラフによって測定した。

なお、得られた加水分解液は非常にグルコース含量が多く、そのためにクロマトグラムのマンノーススポットの分離の充分でない時にはグルコースオキシダーゼを用いて選択的にグルコースを除去した。例えば、10mg のグルコースオキシダーゼによって、10 及び 50 mg のグルコースがそれぞれ 5 及び 20 時間以内で酸化された (pH 7.0, 37°C)。

(2) キシラン、マンナン及びセルロースの中で、キシランは非常に加水分解され易いがセルロースは最も加水分解され難く、前加水分解 (72 % H_2SO_4 室温) 4 時間、後加水分解 (3.5 % H_2SO_4 煮沸) 6 時間行った後でもまだ 1 % 程度のセロビオースが認められる。処理条件を更に苛酷にすると相当量のキシロースが崩壊するが、グルコースとマンノースは安定で殆んど崩壊されない。

(3) パルプを 72 % H_2SO_4 で 30°C, 1 時間処理後 H_2SO_4 濃度 4.0 % に希釈してから 6 時間煮沸すると、所要時間がかなり短縮され、セルロースもほぼ完全に加水分解され、また、キシロースの崩壊割合も比較的

わずかであった。なお、この場合、キシランとマンナンの加水分解は後加水分解 4 時間以内で完結している。

後加水分解に加圧法を用いると更に処理時間を短縮できるが、温度調整並に前後の処理がかなり煩雑である。

(4) パルプの水溶性多糖類 (γ -セルロース等) は 4 % H_2SO_4 で 8 時間煮沸することのみによっても完全に加水分解される。この場合にもキシランの加水分解速度は速く、グルカンが最も遅い。

引用文献

- (1) E. Hägglund & L.C. Bratt: Svensk Kem. Tid. 48, 125 (1936)
- (2) J. Sundman, J. Saarnio & C. Gustafson: Finish Paper Timber J. 31, 467 (1949)
- (3) 江口宏, 和田秀雄: 繊維誌 7, 92 (1951)
- (4) J. R. Simons: World's Paper Trade Review 138, 1766 (1952)
- (5) J.F. Saeman, J.L. Bubl & E.L. Harris: Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 17, 35 (1945)
- (6) J.F. Saeman, W.E. Moore, R.L. Mitchell & M.A. Millett: Tappi, 37, 8, 336 (1954)
- (7) 戸田久昭, 浜田忠平: 本誌, 11, 7, 429 (1957)

パルプ中の多糖類に関する研究

第2報 パルプのアルカリ溶解度とその多糖類組成*

戸田久昭・浜田忠平

Studies on Polysaccharides in the Pulp

Part 2. Alkali Solubilities and Carbohydrate Constituents of Sulphite Pulp.

Hisaaki Toda and Tadahira Hamada

Holocellulose and dissolving grade unbleached and purified sulphite pulp prepared from Todomatsu (*Abies sacchalinensis*) were examined in respect to carbohydrate constituents of their alkali-soluble and -insoluble fractions.

Over 30 % of the holocellulose was dissolved out with 10 % and 18 % NaOH solutions, but only slight amount of β -fraction was found in it. Dissolved xylan, araban, mannan and galactan were present in γ -fractions and occupied about 60 % of the fractions. Pentosan was more easily dissolved than hexosan with alkali solution at 20°C.

As araban, galactan and much amounts of xylan and mannan were removed during the sulphite cooking, the amounts of γ -fraction of the produced pulp decreased, while β -fractions increased owing to the degradation of cellulose. About 80 % of xylan and mannan in the unbleached pulp was dissolved with 10 % and 18 % NaOH solutions and these xylan and mannan occupied about 60 % of the γ -fractions. Considerable amounts of mannan together with small amounts of xylan were found in the β -fractions. Xylan remained in the pulp during the cooking was hardly removed in the refining process