(6) ケトーズの検出: SELIWANOFF の α -naphthol 反応及び resorcin 反応並びに PINOFF のモリブデン酸アンモン反応はいずれも陰性にしてケトーズの存在は認められない。

以上ペーパークロマトグラフィ及び各種検出反応の結果より粘質物は比較的多量のラムノース及びガラクトウロン酸並びに少量のキシロース及びガラクトースより構成せられているものと考えられる。

IV. 粘質物の灰分に就て 本粘質物に含まれる 26.23% (無水物換算 32.00%) の灰分については鉄及びマグネシウムは定量し得られぬ微量であり大部分は CaO である。この灰分を除去する目的で透析を試みたが粘質物自体も少しく膜を通過し又灰分も大して除去し得られず不成功に終つた。次でイオン交換樹脂の使用を試みた。その結果灰分が極めてよく除去せられることを認めると共に、樹脂層通過前後の粘液に対する NaOH の消費量に非常な差異のあることを認めた。即ちアンバーライト IRC-50 (カチオン交換樹脂, -COOH 型) の層を通過せしめてその前後の粘液の N/10 NaOH 液の消費をみるに、通過前はその 1 滴で既にフェノールフタレンは赤変したが、通過後のものは多量の消費をみた。この事実よりすれば灰分の Ca は単なる夾雑物ではなく粘質物に結合して存在するものと推測せられる。尙この点については研究を進めている。

要 約 黄蜀葵粘質物を根の水抽出粘液よりアルコール及びエーテルによつて分離精製し、ペーパークロマトグラフィ及び各種検出法により構成糖類の検索を試みた結果次の事実を明にした。

(1) 粘質物は比較的多量のラムノース及びガラクトウロン酸と少量のガラクトース及びキシロースとより構成されている。

(2) 粘質物は約 26% の灰分を含み、その大部はカルシウムである。而してこれは粘質物と結合しているものと推測せられる。

本研究は高知県の委託研究費によつた。茲に記して深謝の意を表する。又原料入手に就て便宜を供与された日本紙業伊野工場に感謝の意を表する。

(1) 小沢 武 工化, 25, 389 (大 11).	72, 917 (1951); 72, 919 (1951); 74, 183 (1953).
(2) 小栗捨三, 苫米地和雄, 工化, 45, 307, 644 (昭 17). 46, 146 (昭 18); 47, 432 (昭 19).	(4) S. M. PARTRIDGE: <i>Nature</i> , 164, 443 (1949).
(3) 町田誠之: 京都工専創立 45 周年記念論文集 (昭 23); 町田誠之, 内野規人 日化,	(5) F. EHRlich: <i>Ber.</i> , 65, 352 (1932).

Summary

(1) The mucilage was isolated from the root of "Tororo-aoi" (*Abelmoschus manihot*, MEDIC) and its chemical components were detected.

(2) The hydrolysed solution of mucilage was examined at first by paper chromatography and next by tests for carbohydrates under usual way.

(3) It was concluded that this mucilage consisted of a large amount of rhamnose and galacturonic acid, and then of a small quantity of galactose and of xylose, and no other carbohydrates.

(4) The ash content of mucilage was about 26%, which mainly consisted of CaO (Fe_2O_3 and MgO were negligible), and this calcium was seemed to be combined with mucilage.

黄蜀葵根粘質物に関する研究 (第 2 報) 粘質物の化学組成に就て

鷺淵 武雄, 大和田 寛 (高知大学農学部農産製造研究室)

昭和 29 年 3 月 31 日 受理

Studies on the Mucilage of the Root of "Tororo-aoi" (*Abelmoschus manihot*, MEDIC) Part 2. Chemical Composition of Mucilage.

By Takeo OSHIBUCHI and Yutake OWADA (Lab. of Technological Chemistry of Agr. Products, Faculty of Agr., Kochi University)

緒 言 前報に於ては粘液にアルコールを添加して得られる粘質物に就てその構成糖類の検索を試みた結果、多量のラムノース及びガラクトウロン酸、並に少量のガラクトース及びキシロースの存在することを報告し

たが、該粘質物は約 26% の灰分を含有していた。由つて灰分含量少き粘質物を調製するために著者等は西田屹二等⁽¹⁾がビナンカヅラ (*Kadsura japonica*, DUN.) の粘質物即ちキシログルコワロナイドの分離精製に使用した硫酸銅法を採用した。即ち前報の如く脱澱粉脱色せる無色透明の濃縮粘液に 94% アルコールを加えて粘質物を分離し、再び大量の水に溶解した後オートクレーブ中にて 130~135° に於て 3 時間加圧処理した。次で再度脱色して硫酸銅飽和溶液を添加して粘質物を青白色の銅化合物として沈澱せしめ、この銅化合物はアルコールに分散せしめて塩酸により銅を完全に除去した後アルコール、エーテルで洗滌して粘質物を雪白色無定形粉末として得た。その灰分は 0.15% である。硫酸銅による分離精製法は西田屹二等⁽²⁾が指摘している如くフェーリング溶液で沈降するヘミセルローズ類は硫酸銅により銅化合物を生成しないために粘質物中にこれらヘミセルローズの混入を防ぐことが出来るので精製方法として適当なものと云える。

ここに得られた精製粘質物に就て前報に準じて糖類の定性検出を実施し、次で常法によりそれらの定量を行った。その結果粘質物はいずれも無水物としてガラクトウロン酸約 68%, ラムノース約 23%, 並びに OCH₃-基 2% より構成され、前報に於けるアルコール沈澱粘質物に於て検出せられたキシロース及びガラクトースは全くその存在は認められなかつた。即ちキシロース及びガラクトースは粘質物の主要成分ではなく随伴してもたらされたものと推測される。

実 験

I. 精製粘質物の調製 第 1 報既載の黄蜀葵根を使用し、粘質物がラムノースとガラクトウロン酸とを主体とする Polyuronide であるとの定性結果に基づき西田屹二等⁽¹⁾がビナンカヅラ (*Kadsura japonica*, DUN.) に就て実施した条件に準拠して銅化合物として分離精製した。即ち前報と同様に抽出した粘液を脱澱粉及び脱色したる後真空中に (40° 以下) 濃縮して 1/4~1/5 容とし、次いで濃縮液を加圧釜にて 130~135°, 3 時間処理すれば粘液は一部解重合した粘性のない液となる。処理粘液は再び活性炭を加えて脱色し、得たる無色透明液に硫酸銅飽和液を徐徐に加えて攪拌すれば粘質物は青白色の銅化合物となつて沈澱する。

銅化合物は遠心沈澱機にて分離し、水、アルコールで洗滌後 94% アルコールに分散せしめて濃塩酸を少量加えて銅を塩化銅として遊離せしめる方法を反覆して銅を完全に除去し、最後にアルコール及びエーテルを以て塩素反応のなくなるまで十分に洗滌後真空中に乾燥して粘質物を雪白色無定形粉末として得た。原料黄蜀葵根約 30 kg より 61 g を得た。

当精製粘質物は水分 16.65%, 灰分 0.15% にして次の性質を有している。(1) 水に容易に溶解して無色透明の液となり酸性を示す。(2) 沃度液を青変しない。(3) 有機溶剤類には溶解しない。(4) ナフトレゾルシン反応極めて陽性である。

II. 加水分解度 多糖類を酸によつて加水分解すれば構成単糖類に分解し、更に一部フルフラールその他に迄分解してゆくが、分解条件が適当であれば試料の 100% 以上の還元糖が得られるはずである。もしこの値に達しないとすれば何らかの形で還元力が抑制せられている。即ち還元基が完全に遊離していないか或は分解が過度に進んだ結果一部フルフラールその他にまで分解しているものと推測せられる。従つて加水分解により還元糖生成率を求めれば或る程度分解生成物の状態を推察することが出来る。著者等は硫酸及び塩酸を使用して種々の条件下に粘質物の加水分解を実施して次に掲げる諸結果を得た。

(1) 硫酸による加水分解： 粘質物約 0.2 g を精秤し 20 cc の硫酸を加え種々の条件下に加水分解を実施

Table 1. Hydrolysis of Mucilage with 5% H₂SO₄ on various Conditions.

Temperature (°C)	Duration of hydrolysis (hrs)	Reducing sugar (glucose) (%)
100	1.0	9.86
	2.5	19.00
	5.0	33.68
	8.0	40.05
130~140	1.0	18.58
	5.0	51.54
at boiling point	2.5	36.21
	5.0	52.20
	8.0	53.93

し、分解後炭酸バリウムで中和して 100 cc となし、これより 25 cc を採つてベルトラン法により還元糖を求めてグルコースとして表示した。尚%はいずれも無水無灰試料に対する値である。

Table 2. Hydrolysis of Mucilage, with 10% H₂SO₄ at 130~140°.

Temperature (°C)	Duration of hydrolysis (hrs)	Reducing sugar (glucose) (%)
130~140	2.5	56.83
	5.0	66.46
	10.0	65.94
	15.0	58.75

Table 3. Hydrolysis of Mucilage with 2% H₂SO₄ at the Boiling Point.

Temperature	Duration of hydrolysis (hrs)	Reducing sugar (glucose) (%)
at boiling point	10.0	44.26
	15.0	52.25
	17.5	51.47
	20.5	53.60
	22.5	54.47

Table 4. Hydrolysis of Mucilage with 5% HCl at 100°.

Temp. (°C)	Duration of hydrolysis (hrs)	Reducing sugar (glucose) (%)
100	2.5	52.83
	5.0	61.19

(2) 塩酸による加水分解: 5%塩酸を使用して硫酸の場合に於けると同様に 100° に於て加水分解試

験を実施した. その結果は Table 4 の通りである.

以上の諸結果に就てみるに, 硫酸使用の場合 10% 硫酸 130~140° の如き条件下に於ても最高 66.5%, 又 2% 硫酸沸騰下に 20 時間処理しても 54% 附近の値を示すに過ぎない. これらの事実よりすれば西田等⁽²⁾がビナンカヅラ粘質物, HEIDERBERGER 等⁽³⁾がアラビヤゴム或いは ANDRSON⁽⁴⁾が赤ニレ粘質物の加水分解に就て考察している如く黄蜀葵粘質物に於ても同様に分解生成物中に尚 2~3 糖体が存在して還元基が完全に遊離せられぬために還元糖生成率が最高 66% 附近の値を越えないものと推察するのが妥当である.

III. 構成糖類の検出 試料の加水分解生成物に就てペーパークロマトグラフィ及び各種検出法を適用して構成糖類の検出を試みて次の結果を得た.

(1) ペーパークロマトグラフィによる糖の検出 粘質物 2g を採り 5%硫酸 100 cc を加えて 5 時間沸騰下に加水分解し, 加熱しつつ炭酸バリウムで中和, 脱色後真空下に濃縮して約 10 cc となし, 次いで 94% アルコール 50 cc を加えて Ba-塩を沈澱せしめてその濾液をとりシラップとなして第 1 報に於けると同様に実施した. 尙濾別した Ba-塩は少量の水に溶解せしめて同時に展開した. これらの結果は Table 5 に示す通りである.

Table 5. *R_F* Value of Hydrolysed Products (at room temperature).

<i>R_F</i> of known sugar	<i>R_F</i> of hydrolysed products	<i>R_F</i> of Ba-Salt
	1.	2.
Rhamnose	0.46	0.46
Xylose	0.36	0.16
Arabinose	0.33	0.07
Galactose	0.27	
Glucose	0.29	

Table 6. *R_F* Value of Hydrolysed Products of Ba-Salt.

<i>R_F</i> of known sugar	<i>R_F</i> of hydrolysed products
	1.
Rhamnose	0.47
Xylose	0.36
Arabinose	0.33
Galactose	0.26
Glucose	0.29

次いで Ba-塩は更に 5% 硫酸により 5 時間沸騰下に加水分解して同様に処理し, 残存 Ba-塩を除去して濾液をシラップ状となして展開した. その結果は Table 6 の通りである.

これらの結果をみるに, Table 5 の第 1 次分解生成物のペーパークロマトグラフに於てはラムノース以外には他の糖類の存在を認めず, 又 Ba-塩のものでは 2 つのスポットを認めたが 0.16 の顕著なスポットはウロン酸にして, 0.07 の小さいスポットはウロン酸重合物のものと推察せられる. この点に就ては Table 6 の Ba-塩の加水分解物についての結果が 0.07 附近のスポットは認められず, ラムノースとウロン酸に相等するとみられる 2 つのスポットのみが認められたことよりいえる. これらの結果より粘質物はラムノースとウロン酸との 2 成分よりなり, 第 1 報アルコール沈澱粘質物に於て検出したガラクトース及びキシロースは存在しない. 従つて後の 2 成分は粘質物以外の多糖類より随伴してきたものと考えられる.

Table 7. Detection of Hydrolysed Products.

Test	Intensity of reaction (and presumed subst.)
Cd-Xylo-n-bromide	negative (no xylose)
Phenylhydrazone	negative (no mannose)
Mucic acid	very positive (galacturonic acid, galactose)
SELIWANOFF's resorcinol	negative (no ketose)
PINOFF's α-Naphthol	negative (no ketose)
Alcohol soluble phloroglucide	very positive (rhamnose)
K-acid-saccharate	negative (no glucuronic acid, glucose)

(2) 各種検出法による糖の検出 常法により実施した糖の検出結果は Table 7 の示す通りである.

而してウロン酸に就ては第 1 報に報告した如く EHRICH の塩基性醋酸鉛反応⁽⁵⁾がガラクトウロン酸特有の反応を顕著に示

すことよりガラクトウロン酸であることが確認せられた.

以上の結果より精製粘質物はラムノースとガラクトウロン酸とより構成され, 他の糖類は全く伴わないことを確め得た.

IV. 化学組成の定量分析 定性実験の結果に基づきガラクトウロン酸及びラムノース並びに OCH_3 -基の定量を実施して次の結果を得た.

(1) ガラクトウロン酸の定量 : 試料約 0.3 g (風乾) を精秤して LEFÉVRE 及び TOLLENS の方法⁽⁶⁾を少しく改良した装置即ち 12% 塩酸により発生する炭酸ガスを塩化石灰管で脱水した後ソーダアスピートを充填

Table 8. Determination of Uronic-anhydride

Sample(water, ash free) (g)	CO_2		Uronic-anhydride (%/Sample)
	(g)	(%/sample)	
0.2475	0.0422	17.05	68.23
0.2466	0.0418	16.95	67.83
0.2491	0.0426	17.10	68.43
0.1650	0.0282	17.09	68.39
		average	68.22

した微量分析用吸収管に吸収せしめる重量法により炭酸ガス発生量を測定した. 尙ウロン酸 1 分子 (無水物) よりは理論上 44.01 g の炭酸ガスを発生する.

(2) ラムノースの定量 :

Table 9. Determination of Rhamnosan.

Sample(water, ash free) (g)	phloroglucide			Rhamnosan (%/sample)
	Total (g)	Residual (g)	Soluble (g)	
(1) 0.2588	0.0989	0.0597	0.0392	22.29
(2) 0.2579	0.0968	0.0565	0.0403	22.84
			average	22.57

常法によりフロログルシッドを定量し, 次いで 94% アルコールを以て 60° に於て可溶性物と不溶性物とに分つた. その結果は Table 9 の如くラムノース

ンとして 22.57% であつた.

(3) OCH_3 -基の定量 : 常法により沃化水素酸を使用して生ずる沃化メチルをピリジンに吸着せしめる容量法⁽¹⁾を採用して実施した結果 2.03% の OCH_3 -基を含有する.

Table 10. Determination of OCH_3 -Group

Sample(water, ash free) (g)	$\text{AgNO}_3(\text{N}/50)$ (cc)	$-\text{OCH}_3$	
		(g)	(%)
0.2037	6.40	0.00397	1.95
0.1614	5.50	0.00341	2.11
		average	2.03

[1 cc of $\text{N}/50 \cdot \text{AgNO}_3 = 0.006204 \text{ g} \cdot \text{OCH}_3\text{-Group}$]

V. 実験結果の考察 一部解重合せしめた精製粘質物の加水分解物に就ての定性的分析並びに定量分析の結果, 粘質物はその構成糖類としてラムノース及びガラクトウロン酸を有し, これ以外の糖成分は全く

含まない事を知つた. 而してラムノースとガラクトウロン酸は分子比がほぼ [1 : 2] の割合で含有せられていることが確認された.

尙従来ラムノースとガラクトウロン酸とよりなるポリウロナイドに就ては ANDERSON 及び CROWDER⁽⁷⁾; TIPSON, CHRISTMAN 及び LEVENS⁽⁸⁾の亜麻種子粘質物, 又 ANDERSON⁽⁴⁾; GILL, HIRST 及び JONES⁽⁹⁾等の赤ニレ粘質物等の報告がみられるが, いずれの場合に於てもその分子比は [1 : 1] を以て構成されていると報じており, 従つて黄蜀葵粘質物はこれらのものと少しく異なるものであると考える.

要 旨 黄蜀葵根の粘液より得たアルコール沈澱粘質物を再び水に溶解して西田屹二等の硫酸銅による精製法を適用して得た一部解重合した精製粘質物の化学組成等に就て実験を実施して次の結果を得た.

(1) 稀鉍酸に依る加水分解を検討した結果, 常圧下に於いては最高 66.5% の加水分解度を示すに過ぎない事実より加水分解中間物として 2~3 糖体の存在が考えられ, そのために還元基が完全に遊離せず従つてこのような加水分解度を示すものとみられる. 而してその 2~3 糖体は Rhamno-Galacturonide であると考え.

(2) 精製粘質物には前報に報じたキシロース及びガラクトースは全く含まず, ラムノースとガラクトウロン酸の 2 成分より構成され, その分子比はほぼ [1 : 2] であることを明かにした.

本研究の大部は高知県よりの委託研究費によつた. 茲に記して深謝の意を表する.

(1) 西田屹二, 羽島秀雄, 深水徳一 : 農化, 10, 1001 (1934).

(2) 西田屹二, 羽島秀雄 : 農化, 11, 261 (1935).

(3) M. HEIDERBERGER and F. F. KENDAL ; *J. Biol. Chem.*, 84, 634 (1929).

(4) E. ANDERSON : *J. Biol. Chem.*, 104, 163 (1934).

(5) F. EHRLICH : *Ber.*, 65, 352 (1932).

(6) K. V. LEFÉRE u. B. TOLLENS : *Ber.*,

40, 4513 (1907).

(7) E. ANDERSON and J. A. CROWDER : *J. Amer. Chem. Soc.* 52, 3711 (1930).

(8) R. S. TIPSON, C. C. CHRISTMANN and P. A. LEVENE : *J. Biol. Chem.*, 128, 609 (1939).

(9) R. E. GILL, E. L. HIRST and J. K. N. JONES : *J. Chem. Soc.*, 1469 (1939).

Summary

The mucilage was refined by "Copper-sulfate method" and used for the investigation (its ash content was 0.15%).

(1) The mucilage was a white amorphous powder which did not reduce Fehling's solution, and it gave no blue coloration with iodine and gave positive naphthoresorcin test of uronic acid and their anhydrides.

(2) The reducing sugar obtained by hydrolysis of the mucilage with dilute mineral acid (2-10%) under normal pressure was less than 66.5% of the mucilage as glucose. The low value might be owing to the producing of Di- or Tri-saccharide as a result of hydrolysis.

(3) From the quantitative analyses of sugar components, it was made clear that the mucilage has only two components, rhamnose and gaacturonic acid, and the molecular ratio between these two components was about 1:2.

Penicillium chrysogenum Q-176 による Phenylacetic Acid

の酸化的代謝に関する研究 (第 8 報) Phenylacetic Acid より

代謝生成されるニトロ化合物について (その 1)

ニトロ化合物の分離及びその定性的性質

磯 野 正 雄 (武田薬品工業株式会社大阪工場)

昭和 29 年 4 月 1 日 受 理

Oxidative Metabolism of Phenylacetic Acid by *Penicillium chrysogenum* Q-176. Part 8.

Production of a Nitro Compound on the Phenylacetic Acid Metabolism.

(1) Isolation of the Nitro Compound and its Qualitative Properties.

By Masao ISONO (Osaka Factory, Takeda Pharmaceutical Industries Ltd.)

著者は phenylacetic acid (PAA) の代謝中間物質として 2-hydroxyphenylacetic acid (2-OH-PAA) の生成を確認して第 3 報⁽¹⁾に報告したが、更に中間代謝物を検索する目的で諸種の培養条件に於ける PAA の添加培養を試みた。第 2 報⁽²⁾で述べたように PAA 酸化能の至適 pH は 5.6 附近で、これよりアルカリ側に傾くと酸化能は徐々に低下する事実に着目し、アルカリ性に於ける PAA 添加培養にあつては未知代謝中間体の集積が認められないかと考えるに至つた。著者はこの見解にもとづいて PAA 添加培養に際し過量の CaCO_3 を加え pH 7.5~8.0 の培養を行つてみた。その結果培養濾液には PAA を添加培養した時のみ FeCl_3 反応によつて赤色を呈する物質の生成を認めることが出来た。この物質は培養濾液の濃縮液から ether で 2-OH-PAA と同時に抽出され、融点 148~9° を示し分子式 $\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_5\text{N}$ に相当する黄色針状結晶として単離された。定性的試験の結果、本物質は文献未知のニトロ化合物と推定され、微生物の生成するニトロ化合物として特に興味深い。

〔I〕 実験 及 び 結 果

I. 含窒素化合物の単離

3l 容振盪フラスコを用い、培地、培養条件及び使用菌株は 2-OH-PAA の分離⁽¹⁾に実施した時と全く同様に行つた。ただし培養全期間を通じて培地の pH を 7.5~8.0 に保つため、培養 48 時間後と 96 時間後とに粉末 CaCO_3 をそれぞれ 5 g 及び 2.5 g 添加し、更に培地が酸性に傾く時は 10% NaOH を加えて pH を調整した。

培養 168 時間後にブフナーの漏斗で菌体を濾別し、濾液に H_2SO_4 を加えて pH 3~4 に下げしばらく放置して生ずる凝固蛋白を濾別した。除蛋白濾液を NaOH で完全に中和して 60° 内外で約 1/10 容に減圧濃縮した。濃縮液を再び H_2SO_4 で酸性としてから濾過し、まず ether で 6~8 時間連続抽出を行い 1st Ether Fraction