ヒガンバナ鱗茎の炭水化物に関する研究 (第 13 報)* 新グルコマンナン“ヒガンバナマンナン”について (其の 3)

水 野 卓 (静岡大学農学部農芸化学科生物化学研究室)

昭和 31 年 7 月 24 日 受 理

近年多糖類の構造研究に過沃素酸による酸化開裂法が導入され、目覚しい成果をおさめているが、グルコマンナンに応用した報告はコンニャクマンナンについて前川等⁽¹⁾の報告があるのみである。

著者もヒガンバナから単離したグルコマンナンを NaIO_4 で酸化し、その構造について一二の知見を得たので報告する。なお今までに報告した結果⁽²⁻⁵⁾からヒガンバナマンナンの化学構造について考察したのでその要点を併せて報告する。

実 験 の 部

I. ヒガンバナマンナンのグリコール開裂

(1) 酸化開裂に伴う NaIO_4 の消費量 ヒガンバナマンナン 4 g を 50% H_2SO_4 50 cc に溶解し冷却しながら 30% NaOH を徐々に滴下して正確に中和し、蒸留水で 200 cc とする (透明液となる。約 2% 溶液)。この溶液 20 cc と 0.37 M NaIO_4 液 20 cc を混合・密栓・遮光して 30° 恒温器中に保持する。一定時間毎にその 1 cc を採り飽和 NaHCO_3 液 5 cc でアルカリ性となし、次いで 10% KI 液 5 cc を加え遊離する I_2 を $\text{N}/20$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 液で滴定し、残存 NaIO_4 量を定量した。酸化開裂に伴う NaIO_4 の消費量をヒガンバナマンナン分子中の C_6 単位当りのモル数で比較すれば第 1 表のようで、酸化開裂の完了には約 24 時間を要し、 C_6 単位当り約 1 モルの NaIO_4 を消費する。

(2) 酸化開裂に伴う $[\alpha]_D$ の変化 2% ヒガンバナマンナン液 10 cc と 0.37 M NaIO_4 液 10 cc を素早く混合して 2 dm の測定管に入れ、Na-灯下で一定時間毎に比旋光度を測定し第 2 表の結果を得た。

ヒガンバナマンナン溶液は $[\alpha]_D^{28} -41.23^\circ$ (in Na_2SO_4 , $c=2$) であるが、 NaIO_4 液を作用させて酸化すると次第に負の旋光度が大となり、反応 24 時間で $[\alpha]_D -62.19^\circ$ となりそれ以後は変化しない。 $[\alpha]_D$ の変化曲線は NaIO_4 の消費曲線と一致する。

(3) 酸化開裂に伴う粘度の変化 予め恒温水槽中で 30° とした 1% ヒガンバナマンナン液 10 cc と 0.37 M NaIO_4 液 10 cc を混合し、その 10 cc を Ostwald 粘度計に採り、反応一定時間毎に流下速度を測定し、粘度変化を求め第 3 表の結果を得た。

酸化開裂の進むにつれて粘度の低下を来すが、特に反応初期に著しい変化が見られる。 NaIO_4 消費曲線、 $[\alpha]_D$ の変化曲線に並行している。

(4) 酸化開裂により生成する蟻酸の定性及び定量 既報^(6,7)に準じヒガンバナマンナン液を 0.37 M NaIO_4

第 1 表 ヒガンバナマンナンの過沃素酸酸化過程に於ける NaIO_4 消費量

反応時間 (時間)	0	1	5	10	15	20	24	30	35
NaIO_4 消費量 (mol/ C_6 unit)	0	0.03	0.26	0.68	0.82	1.01	1.07	1.05	1.06

第 2 表 ヒガンバナマンナンの過沃素酸酸化過程に於ける $[\alpha]_D$ の変遷

時間 (時間)	0	1	5	10	15	20	22	24	26	30	35
$-\alpha]_D^{28}$	41.23°	42.07°	47.41°	52.92°	56.01°	60.28°	61.00°*	62.19°*	62.14°*	62.20°	62.21°
* $-\alpha]_D^{27}$											

第 3 表 ヒガンバナマンナンの過沃素酸酸化過程に於ける粘度変化

反応時間 (時間)	0	1	5	10	15	20	24	30	35
粘度 流下速度 (秒)	68.9	67.2	65.1	59.8	55.4	53.7	53.0	53.2	53.1

(註) 水 5 cc + 0.37 M NaIO_4 液 5 cc の流下秒数 38.2.

水 10 cc の流下秒数 36.1.

* Studies on the Carbohydrates in the Bulb of *Lycoris radiata* Herbert. Part XIII.

A New Branched Glucomannan "Higanbana-mannan" (3).

By Takashi MIZUNO (Biochemical Laboratory, Department of Agricultural Chemistry, Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Iwata, Japan).

第 4 表 ヒガンバナマンナン の過沃素酸酸化の結果
生成する蟻酸の同定

濾紙 ; 東洋濾紙 No. 50, 40×3 cm.
展開溶媒 ; アンモニア性エタノール (A)*1
アンモニア性ブタノール (B)*2
呈色剤 ; 酸性プロモフェノールブルー液*3
展開法 ; 1 次元上昇法 (8 時間, 25°)

酸 類	R _F 値		スポット の呈色	同 定
	(A)	(B)		
蟻 酸	0.31	0.10	黄色	
酢 酸	0.33	0.11	黄色	
プロピオン酸	0.44	0.19	黄色	
酪 酸	0.54	0.29	黄色	
供 試 液	0.31	0.10	黄色	蟻酸

*1 95% エタノール 100 cc と濃アンモニア水 1 cc の混液.

*2 1.5 N-アンモニア水で飽和したブタノール.

*3 プロモフェノールブルー 500 mg とクエン酸 200 mg を 100 cc の水に溶解した液.

第 5 表 過沃素酸酸化法によるヒガンバナマンナン
の末端基定量

	試 験	空白値	差 異
0.02 N Ba(OH) ₂ *1 滴定 cc 数 (5 回平均値)	6.02	4.68	1.34
HCOOH 生成量 g	1.263 mg HCOOH ヒガンバナマンナン 2 g		

1 モルの HCOOH を生成す
るに要するヒガンバナマン
ナンの g 数 (=分子量)

73015.9

重 合 度*2

450.7

*1 0.02 N Ba(OH)₂ 液として $F=1.0247$.

*2

重合度 = $\frac{1 \text{ モルの蟻酸を生成するに要するヒガンバナマンナンの g 数}}{162 (C_6H_{10}O_6)}$

せる操作を繰返して精製し、結晶化を試みたが結晶は得られなかった。

得られた精製“酸化ヒガンバナマンナン”は純白色無定形粉末で、冷～熱水に溶け、稀アルカリ液に易溶、80% 以下の含水熱アルコールにやや溶けるが、アセトン、クロロホルム、エーテル、アルコールには不溶。Fehling 液、アンモニア性硝酸銀液を還元する。[α]_D²⁰ -62.24° (in 0.5% NaOH, c=0.8)。

(6) 酸化ヒガンバナマンナンの加水分解産物中の未反応糖類の検索 酸化ヒガンバナマンナンの粉末 200 mg と 5% H₂SO₄ 20 cc を封管中に採り、140°, 3 気圧で 1 時間加水分解し、分解液は熱い中に過剰の CaCO₃ 末で中和後減圧濃縮乾涸し、それを 80% エタノールで熱時抽出、濾過し、濾液からエタノールを追出して得られるシラップについてペーパークロマトグラフィを繰返し実施し、酸化ヒガンバナマンナンの加水分解物中のグルコースとマンノースの存否を検したが、いずれもその存在は証明出来なかった。

II. ヒガンバナマンナンの化学構造についての考察

ヒガンバナの麟基及びヒゲ根から粘質物を単離し、それがグルコースとマンノースから成るグルコマンナンの一種であることを明らかにし新しく“ヒガンバナマンナン”と命名し、メチル化法、加水分解中間産物の検索並びに過沃素酸酸化法などによって構造論的知見を得たので、それらを纏めて以下に考察して見る。

(1) グルコースとマンノースの構成モル比 ヒガンバナマンナンを加水分解するとグルコースとマンノースのみを生成し、構成モル比はグルコース：マンノース=1：4 で、その組成は精製の各段階に於いても変りなく元素組成も一致している^(2,3)。

(2) グルコースとマンノースの結合様式 トリメチルヒガンバナマンナンの完全加水分解産物として、2,3,6-トリメチルマンノース、2,3,6-トリメチルグルコース、2,3,4,6-テトラメチルマンノースなどが主として確認されることから⁽⁴⁾、この多糖類の主鎖はグルコース基及びマンノース基の 1 位と 4 位の炭素原子が順次結合にあずかっているものと考えられる。なおこの他に 2,3-ジメチルグルコースが証明される⁽⁴⁾ことはヒガンバナマンナン分子中のグルコース基の一部は C¹, C⁴, C⁶ の 3 つの炭素原子が結合にあずかっていることを証明する

液で酸化し、反応の結果生成する蟻酸をエーテルで抽出して集め、ペーパークロマトグラフィ⁽⁸⁾によって証明することが出来た (第 4 表参照)。

なお反応完了液中にはホルムアルデヒドは存在しないことを確めた (反応完了液に数滴の石炭酸を加え徐々に conc. H₂SO₄ を加え、両液の接触面には紅色が生じない)。

更に Potter-Hassid 法^(6,7,9)に準じてヒガンバナマンナンを NaIO₄ で酸化し、生成する蟻酸を滴定法によって定量し、それに基づいて重合度を算出したので結果を第 5 表に示す。即ちヒガンバナマンナン 2 g 当り 1.26 mg の HCOOH を生成する。

(5) “酸化ヒガンバナマンナン”の調製 4% ヒガンバナマンナン液 (Na₂SO₄ 溶液で pH 6.8) 50 cc に 0.37 M NaIO₄ 液 100 cc を混合し、密栓・遮光して 5° 以下の冷蔵庫中に 4 日間放置して酸化開裂を完全ならしめた。反応終了後混合液をセロハン膜袋中に入れ水道水中で 7 日間、次いで蒸留水中で 24 時間透析を行う。透析後、液が 1/5 容となるまで 40° 以下で減圧濃縮し、5 倍容のアセトン中に投入、攪拌すれば“酸化ヒガンバナマンナン”は沈澱となって析出する。これを遠心分離して集め、アセトン、エーテルで繰返し洗滌すれば純白色の粉末を得る。収量約 1 g。なお得られた粉末を水に溶解してアセトンを加えて沈澱さ

もので、1,4-結合の他に枝分れ部分の構造として1,6-結合の存在が考えられる。またヒガンバナマンナン糖の過沃素酸化によって C_6 単位当り1モルの IO_4^- を消費する⁽⁵⁾こともこの事実を否定するものでない。

(3) **ヒガンバナマンナン分子中の分枝構造の存在** ヒガンバナマンナン糖の水溶液は非常に粘度が高くヒガンバナ糖の粘質の本体である⁽²⁾ことから、その分枝構造の存在は想像に難くないが、また他方トリメチルヒガンバナマンナン糖の最終水解産物として2,3-ジメチルグルコースが確認される事実からしてその分枝構造は証明されたわけである。この他に2,3-ジメチルマンノースが証明されないことは枝分れ部分はグルコース基のみであることが考えられ興味あることである。

(4) **ヒガンバナマンナン分子の末端基** ヒガンバナマンナン糖の完全メチル化物の水解産物として2,3,4,6-テトラメチルマンノースが確認されるが、2,3,4,6-テトラメチルグルコースの存在が証明されない⁽⁴⁾のは、ヒガンバナマンナン糖分子の末端にはマンノース残基のみが存在しグルコース基は存在しないことを意味するものである。

(5) **ヒガンバナマンナン分子の重合度** 過沃素酸化によりその非還元性末端基から1分子の蟻酸を生成するものとして計算したヒガンバナマンナン分子の重合度は451であるが、前述のようにその分子中に枝分れ構造が存在するため実際には451より大きい管である。今トリメチルヒガンバナマンナン糖水解産物中の2,3,6-トリメチルグルコースと2,3-ジメチルグルコースの量的比率からその分枝率を求め、この値を考慮して先の重合度451を補正すれば $450.7 \times 21/13 = 728.1$ となる。なおこの値はヒガンバナマンナン糖分子中に還元性末端基や、マンノース基からの枝分れ部分が存在すると重合度算出結果に大きく影響するが、これらの存在は前に述べた実験でいずれも否定されている。

(6) **グルコースとマンノースの結合順序** ヒガンバナマンナン糖分子中のグルコース基(G)とマンノース基(M)の結合順序として、分枝構造部分を考えない場合直鎖部分の repeating unit として次の4通りが一応考えられる。

(d) 以上3種の中いずれかが適当な順序で組合さった構造

これらの中(a)の様式は末端にグルコース基が位置する可能性が出て来るから前述の実験結果からしても妥当でない。また(c)の様式はヒガンバナマンナン糖の水解中間産物としてグルコマンノテトラオース、グルコマンノトリオース、マンノトリオース、マンノビオースなどの生成する事実⁽⁴⁾が充分説明出来ない故(b)の結合順序がより妥当性がある。またこれら主鎖の他にグルコース基からの分枝構造を考慮すると一層複雑となり、詳細は今後の研究に待つべきものである。

(7) **ヒガンバナマンナン糖の化学構造の推定** 以上の実験並びに考察結果から、ヒガンバナマンナン糖の化学構造を以下の如く結論し次式を提唱する。なお原多糖類の $[\alpha]_D$ が左旋性であり、アセチル及びメチル誘導体ともに左旋性を示すことから、また可成り加水分解され難い事実などからして、ヒガンバナマンナン糖の主鎖は β -1,4-グリコシド結合が考えられる。

“ヒガンバナマンナン糖はグルコース1部とマンノース4部とから成るグルコマンナン糖の一種で、鎖状構造をとり平均重合度約730、主鎖は β -1,4-グリコシド結合で、存在する1/3のグルコース基から1,6-結合で分枝し、還元性末端基は存在せず、非還元性末端はマンノース基である。”

要 約

1. ヒガンバナマンナン糖を過沃素酸ソーダで酸化し、酸化開裂に伴う $NaIO_4$ の消費量、 $[\alpha]_D$ の変化、粘度変化及び蟻酸生成量から重合度を明らかにした。

2. ヒガンバナマンナン⁽¹⁾の過沃素酸酸化により, “酸化ヒガンバナマンナン” を調製し一二の性質を明らかにした。

3. 得られた実験結果からヒガンバナマンナンの化学構造について考察し, 次のような結論に達した。

“ヒガンバナマンナンはグルコース 1 部とマンノース 4 部とから成るグルコマンナンの一種で, 鎖状構造をとり平均重合度約 730, 主鎖は β -1,4-グリコシド結合で, 存在する 1/3 のグルコース基から 1,6-結合で分枝し, 還元性末端基は存在せず, 非還元性末端はマンノース基である” と。

(1) 前川一之, 中島敏彦: 農化大会講演 (1955 年 4 月 1 日)。

(2) 林 金雄, 永田幸雄, 水野 卓: 本誌, 27, 234 (1953)。

(3) 水野 卓: 静大農研, 5, 238 (1955)。

(4) 水野 卓: 本誌, 31, 138 (1957)。

(5) 水野 卓: 本誌, 31, 142 (1957)。

(6) 水野 卓: 本誌, 30, 310 (1956)。

(7) 水野 卓, 金兵忠雄: 静大農研, 5, 218 (1955)。

(8) E. Lederer, M. Lederer: “*Chromatography*” p. 123 (1954)。

(9) A. L. Potter, W. Z. Hassid: *J. Am. Chem. Soc.*, 70, 3488 (1948)。

清酒及び合成清酒の酸化還元電位に就て (第 6 報)*

吟醸仕込の酏及び醪の酸化還元電位に就て

宮 地 昇, 栢 原 健 二 (三楽酒造株式会社研究所)

昭和 31 年 9 月 27 日 受 理

[I] 緒 言

前報の速醸酏⁽¹⁾, 山廃酏⁽²⁾の場合に引続いて, 本報では吟醸仕込の酏及び醪についての酸化還元電位並びに I. T. T. 値の測定結果を報告する。又, 吟醸造りに成功した例と失敗した例との両者の rH の差について報告する。但し, 本報で述べる吟醸は従来の吟醸と少し違い, 従来の吟醸は粕が原料米の石当り 13 貫以上非常に多く出るのが普通であるが, このような吟醸は味が淡麗に過ぎて合成清酒の香味液には適さない。本報で述べる吟醸は速醸型のものであるが, 所謂合成清酒の香味液を主体として考えて醸造されたもので, 従つて味もかなり濃厚に粕も従来の吟醸よりずっと少くなっており, 経済的吟醸又は実用的吟醸というような考え方で醸造されたものである。

[II] 実 験 方 法

酸化還元電位及び I. T. T. 値の測定方法は前報^(1,2)と同様である。

[III] 吟醸酒母及びその醪の製造経過及び一般分析

吟醸仕込に成功した供試吟醸酒母及びその醪の仕込配合, 製造経過及び一般分析結果は次の通りである。

(1) 仕込配合

	酒母	初添	仲添	留添	計	乳酸添加量	汲水斗当	100cc (75%)
	石	石	石	石	石			
蒸 米	.500	1.100	2.200	3.900	7.700	仕込水加工		
麴 米	.250	.450	.650	.950	2.300	酏	硬度 9度, クロール	100 mg
汲 水	.600	1.100	2.900	5.900	10.500	醪 初添, 硬度 9度, クロール		60 mg
酒精(30%)				2.000		仲, 留添, “ 3度, “		60 mg
						精 白 度 全部 4 割		

(2) 製麴

製麴は合成清酒の香味液という観点から, 比較的濃醇酒を希望したため, 酏麴は総破精と突破精とを加味した

* Oxidation-Reduction Potentials of Sake and Synthetic Sake. Part VI. On the Oxidation-Reduction Potentials in the “Ginjō-moto” and the Mash of Sake.

By Noboru MIYACHI and Kenji KAYAHARA (Research Institute of Sanraku Shuzō Co., Ltd.)